ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

Année 1970. N° 81

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'ÉLECTROLYTÉMIE ET DE LA PROTIDÉMIE CHEZ LES BOVINS

THÈSE

pour le

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

Diplôme d'Etat

Présentée et soutenue publiquement en décembre 1970

devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse

par

Jean-Pierre FERRIER

Né le 16 février 1944 à CASABLANCA (Maroc)

JURY :

Président : M. DOUSTE-BLAZY, Professeur à l'Université Paul-Sabatier de Toulouse.

Assesseurs : M. RICO, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.
M. LABIE, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'ÉLECTROLYTÉMIE ET DE LA PROTIDÉMIE CHEZ LES BOVINS

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546526_0020

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

Année 1970. **N° 81**

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'ÉLECTROLYTÉMIE ET DE LA PROTIDÉMIE CHEZ LES BOVINS

THÈSE

pour le

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

Diplôme d'Etat

Présentée et soutenue publiquement en décembre 1970

devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse

par

Jean-Pierre FERRIER

Né le 16 février 1944 à CASABLANCA (Maroc)

JURY :

Président : M. DOUSTE-BLAZY, Professeur à l'Université Paul-Sabatier de Toulouse.

Assesseurs : M. RICO, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.
M. LABIE, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur : M. FLORIO
Directeurs honoraires : MM. PONS, DARRASPEN

PERSONNEL ENSEIGNANT

Chaire de Pharmacie et de Toxicologie :

MM.

Professeur titulaire ..... GODFRAIN
Maitre-Assistant .....Mme BURGAT-SACAZE
Pharmacie et Toxicologie.

Chaire de Physique et Chimie Biologiques et Médicales

Professeur titulaire ..... RICO
Maitre-Assistant ..... LORGUE
Physique biologique et médicale
Chimie biologique et médicale.

Chaire d'Anatomie des Animaux domestiques

Professeur titulaire ..... PAVAUX
Anatomie descriptive - Extérieur
Anatomie appliquée - Tératologie,

Chaire de Physiologie et Thérapeutique

Professeur titulaire ..... RUCKEBUSCH
Maitre-Assistant ..... FARGEAS
Physiologie - Thérapeutique
ou Pharmacodynamie.

Chaire d'Histologie - Anatomie Pathologique

Professeur titulaire ..... VAN HAVERBEKE
Maitre de Conférences,
non Chef de Service ... CABANIE
Histologie - Embryologie
Anatomie Pathologique.

Chaire d'Hygiène et Industrie des Aliments d'origine animale.

Professeur titulaire ..... LABIE
Maitre-Assistant ..... EECKHOUTTE
Hygiène, Inspection, Contrôle et Technologie des denrées alimentaires d'origine animale.

Chaire de Parasitologie et Maladies Parasitaires

Professeur titulaire ..... BRIZARD
Maitre-Assistant ..... DORCHIES
Zoologie appliquée - Parasitologie externe
Parasitologie interne - Clinique.

Chaire de Sémiologie et Pathologie médicale des Equidés et Carnivores

Professeur titulaire ..... FLORIO
Maitre de Conférences,
non Chef de Service,
Professeur sans chaire . LESCURE
Maitre-Assistant ..... GUELFI
Sémiologie et Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores - Législation Vétérinaire et Déontologie Clinique.

Chaire de Pathologie Médicale du Bétail et des Animaux de Basse-Cour

Professeur titulaire ..... TOURNUT
Maitre de Conférences,
non Chef de Service .. ESPINASSE
Sémiologie et Pathologie Médicale du Bétail et des animaux de Basse-Cour — Clinique — Clinique ambulatoire.

Chaire de Pathologie Chirurgicale

Professeur titulaire ..... N.
Maitre-Assistant ..... CAZIEUX
Propédeutique et Sémiologie chirurgicale.
Technique chirurgicale - Pathologie chirurgicale - Podologie - Clinique.

Chaire de Pathologie de la Reproduction

Professeur titulaire ..... BERTHELON
Maitre de Conférences,
non Chef de Service,
Professeur sans chaire . ROYAL
Sémiologie et propédeutique - Pathologie de la Reproduction - Obstétrique - Clinique

Chaire de Maladies contagieuses - Zoonoses - Législation Sanitaire

Professeur titulaire ..... SAURAT
Maitre-Assistant ..... CHANTAL
Maladies Contagieuses - Zoonoses - Législation Sanitaire.

Chaire de Pathologie Générale - Microbiologie - Immunologie.

Professeur titulaire ..... LAUTIE
Microbiologie - Immunologie - Pathologie Générale.

Chaire de Zootechnie et Economie Rurale

Professeur titulaire ..... QUEINNEC
Maitre-Assistant ..... DARRE
Ethnologie - Génétique appliquée - Hygiène
Générale - Zootechnie - Elevage - Economie générale et des productions animales.

Chaire d'Alimentation

Professeur titulaire ..... FALIU
Maître Assistant Agrégé GRIESS, Agrégé.
Botanique appliquée et Bromatologie - Agronomie - Alimentation.

COURS COMPLEMENTAIRES — CHARGES D'ENSEIGNEMENT

Antibiothérapie des Maladies Infectieuses ..... MONNIER
Aspect médical des Zoonoses ..... ARMENGAUD
Energétique et Métabolismes ..... LABOUCHE
Initiation à l'Informatique biomédicale ..... FERNET
Agronomie ..... BRISEBOIS
Les Marchés Internationaux de l'Elevage ..... BLANC
Organisation de l'Elevage bovin ..... SABLAYROLLES
Responsabilité Civile et Pénale du Vétérinaire, Inspecteur des Denrées Alimentaires ..... LINON
Rôle Economique des collectivités locales ..... EECKHOUTTE
Rentabilité de l'élevage .. ROUCH

La Faculté et l'Ecole déclarent n'être pas responsables des opinions émises par les candidats (délibération de la Faculté, en date du 10 mai 1891 et du Conseil de l'Ecole, en date du 13 juin 1924).

A MA FAMILLE

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur DOUSTE-BLAZY

de la Faculté de Médecine de Toulouse

Nous le remercions très respectueusement de l'honneur qu'il nous a fait en présidant notre jury.

Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre reconnaissance et notre profond respect.

UNIV. LEIDEN BIBL.

A NOTRE JURY DE THESE

Monsieur le Professeur RICO

de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Il a bien voulu nous confier le sujet de cette thèse, et nous guider dans ce travail.

Qu'il veuille bien trouver ici le témoignage de notre respectueux attachement.

Monsieur le Professeur LABIE

de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Nous lui sommes reconnaissants d'avoir bien voulu accepter de participer à notre jury de thèse.

Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre respectueuse gratitude.

A TOUS NOS MAITRES

DE L'ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

PLAN

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE L'ELECTROLYTEMIE ET DE LA PROTIDEMIE CHEZ LES BOVINS

A) INTRODUCTION

B) RAPPELS PHYSIOLOGIQUES DES IONS FAISANT L'OBJET DE DOSAGES

I - Sodium et Potassium :

— Répartition dans l'organisme :
  1) Le sodium
  2) Le potassium

— Métabolisme de ces éléments :
  1) Absorptions
  2) Rôles
  3) Elimination

II - Calcium :

— Distribution dans la nature et répartition dans l'organisme
— Métabolisme calcique :
  1) Absorption
  2) Rôles
  3) Elimination
  4) Régularisation

III - Phosphore :

— Distribution dans la nature et répartition dans l'organisme
— Métabolisme du phosphore :
  1) Absorption
  2) Rôles
  3) Elimination
  4) Régularisation du métabolisme phosphocalcique

IV - Protéides Plasmatiques :

— Origines
— Rôles
— Elimination

C) METHODES DE DOSAGES DES PRINCIPAUX ELECTROLYTES

I - Modalités des Prélèvements :

II - Spectrophotométrie de Flamme :

— Définition
— Principe
— Technique

III - Résistivité :

— Définition
— Principe
— Technique

IV - COMPLEXOMETRIE :

— Principe et réactions chimiques
— Technique

V - Dosage du Phosphore minéral par colorimétrie :

— Principe
— Technique

VI - Dosage des Protéides par colorimétrie :

— La réaction du Biuret
— L'analyse colorimétrique

D) INTERPRETATION STATISTIQUES DES RESULTATS

E) CONCLUSION

F) BIBLIOGRAPHIE SOMMAIRE

INTRODUCTION

L'être vivant peut être ramené, le plus simplement qu'il soit, à un ensemble de matériaux solides et liquides, composés eux-mêmes, d'eau, de matières minérales et de matières organiques, ayant les uns avec les autres d'étroits rapports permettant l'aboutissement du phénomène vital.

Tous ces éléments se répartissent de diverses façons dans l'organisme pour y jouer des rôles particuliers. Ainsi, l'eau, constituant principal de cet organisme animal, se lie-t-elle aux protéines hydrophiles pour constituer cette solution colloïdale qu'est le protoplasme cellulaire ; de même est-elle à la base de toutes les solutions permettant aux molécules et aux ions de réagir ; elle sert enfin de véhicule aux principes nutritifs, aux produits du métabolisme, aux hormones...

Le rôle biologique des substances minérales n'en est pas pour autant diminué. Cet édifice minéral diffère beaucoup d'un organisme ou d'un tissu à un autre et les études faites d'éléments minéraux marqués ont montré qu'il existait des échanges continuels de ces matières. Enfin, il y a un renouvellement ininterrompu de ces substances. Leur rôle est en premier lieu plastique car elles sont des constituants cellulaires et entrent surtout dans la constitution du squelette. Elles sont également indispensables aux liquides et aux sécrétions organiques. Ces sels minéraux agissent à l'état de dissociation électrolytique et ce sont ces actions d'ions qui caractérisent leur rôle fonctionnel. Tous ces ions doivent alors être dans des proportions déterminées car il existe un antagonisme entre les ions monovalents et les ions bivalents, parfois même entre les ions de même valence.

Ces ions vont assurer à toutes les cellules de l'organisme un milieu intérieur de composition bien définie, maintenant, par là même, la pression osmotique à une valeur constante Pour ce faire, ils se répartissent dans tous les liquides d'une manière fixe, invariable normalement, connue sous le nom

d'ionogramme. Cet ionogramme permet d'apprécier la part de chaque ion, positif ou négatif et ce, grâce à la notion essentielle de quantité d'électrolyte exprimée en ion-gramme (ion-g). Toutefois, on adopte le plus souvent une expression en Equivalent (Eq) : L'équivalent d'un ion correspond au poids en grammes de cet ion divisé par sa valence. Comme les masses qui nous occupent sont très petites, on utilise le milliéquivalent (mEq) qui est la millième partie de l'Equivalent et qui permet d'exprimer la concentration d'un ion en solution, autrement dit ses possibilités de réaction. On calcule cette concentration en milliéquivalents par litre (mEq/l) grâce à la formule suivante :

$$x \text{ mEq/l} = y \frac{V}{A}$$

y : concentration de l'ion en mg/l
V : valence de l'ion
A : masse atomique de l'ion

		mg/l	mEq/l
ANIONS	Protéines	70 000	15 à 18
	Phosphates	95 à 106	3
CATIONS	Na^+	3 000	142
	K^+	180 à 190	5
	Ca^{++}	100	5

Ainsi, dans ce tableau, nous apprécions la part de quelques ions importants dans l'équilibre électrique du plasma.

En ce qui concerne les matières organiques, il s'agit bien sûr des glucides, des lipides et des protides. Ces derniers représentent 16 à 18 % du poids chez l'adulte et sont également dans un état d'équilibre dynamique. L'organisme est formé d'un grand nombre de protéines spécifiques et il est nécessaire que tous les acides aminés essentiels soient toujours à sa disposition pour la synthèse de telles protéines, le métabolisme de ces acides aminés essentiels étant, de ce fait, particulièrement important. Il faut ajouter enfin que le turn over des protéides varie avec les espèces et les organes et que celui des acides aminés est conditionné dans une certaine mesure par la teneur en protides de la ration.

RAPPELS PHYSIOLOGIQUES DES IONS FAISANT L'OBJET DES DOSAGES

I - SODIUM et POTASSIUM

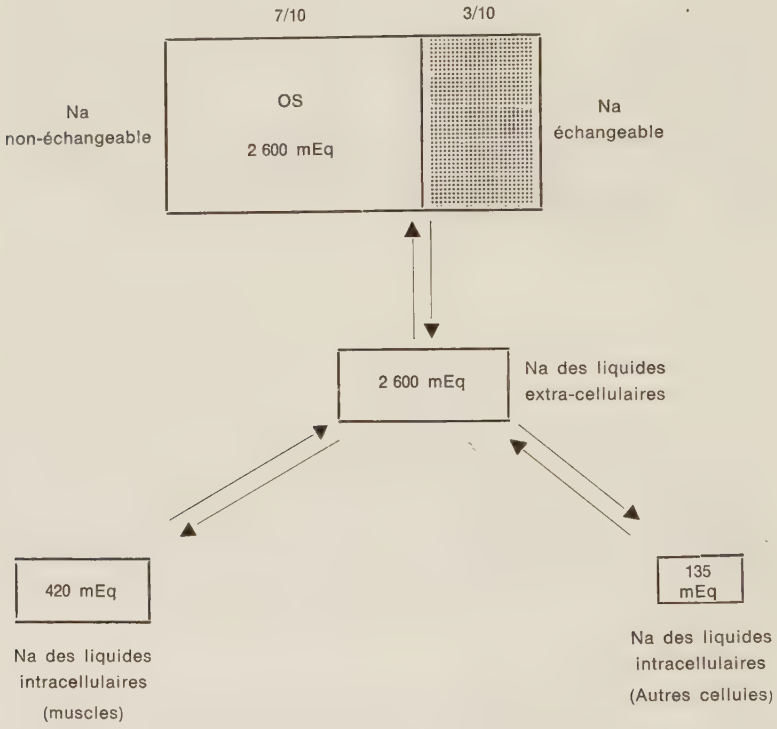
— **Distribution :** Les concentrations en ions sodium [Na^+] sont relativement élevées dans les liquides extra-cellulaires de la série animale alors que celles de l'ion potassium [K^+] sont relativement faibles. Le milieu cellulaire, au contraire, est relativement pauvre en Na^+ et très riche en K^+. Le rapport $\frac{K}{Na}$ augmente dans les tissus à fonctions importantes et riches en cellules.

Le taux de potassium dans un organisme a une constance remarquable quelle que soit la dose ingérée mais en cas d'ingestion exagérée de potassium, l'organisme retient beaucoup moins énergiquement son sodium.

1) Le Sodium :

Une partie de ce sodium est liée, l'autre libre. La partie liée ou combinée est représentée par le Na du tissu osseux qui correspond à 58 à 67 % du sodium total. Le sodium libre se retrouve surtout dans le plasma (3,40 g/l soit 147 mEq/l) et relativement peu dans les globules (0,80 g/l soit 34 mEq/l). Il est à remarquer que, chez un même individu, la teneur du plasma en sodium se montre relativement fixe. Le sodium est présent surtout sous forme de chlorure. Enfin, il faut admettre également l'existence « d'un espace sodium » distinct de « l'espace aqueux extra-cellulaire », de « l'espace inuline », de « l'espace potassium intracellulaire ».

Le schéma suivant montre la répartition du sodium dans l'organisme :



2) Le Potassium :

Il se trouve surtout dans les globules (4,8 g %) et relativement en faible quantité dans le plasma (environ 0,15 g %) tandis que le potassium total représente 0,25 % du poids corporel. Sa forme de prédilection dans l'organisme est surtout la forme minérale, notamment le chlorure. On voit donc qu'à l'inverse du sodium, les ions potassium sont prépondérants dans les liquides intracellulaires et qu'ils présentent une constance assez remarquable malgré les apports alimentaires et tous les facteurs qui sont susceptibles de mobiliser les cations. Cette mobilisation du potassium cellulaire se produit d'ailleurs sous diverses influences comme le travail musculaire, lors du métabolisme glucidique également (transformation du glycogène en glucose). Cette libération fait suite

également aux lésions et désintégrations cellulaires comme c'est le cas à la suite d'irrigation insuffisante des tissus et d'anoxie. Ces échanges de potassium entre les liquides intercellulaires et intracellulaires provoquent une augmentation du potassium plasmatique rapidement réversible.

Quelques tableaux vont résumer ces données. Le premier a trait aux teneurs en mEq/l chez l'homme, le second aux teneurs en mg chez les différentes espèces animales.

	Na^+ mEq/l	K^+ mEq/l
Plasma	142±6	4,6±0,5
Hématies	12	110

	mg dans 100 ml de sang			mg dans 100 ml de sérum			mg pour 100 ml d'hématies		
	Na	K	K/Na	Na	K	K/Na	Na	K	K/Na
en	271 (117)	21 (5,2)	0,077	317 (137)	20 (5)	0,069	210 (91)	23 (5,7)	0,109
at	272 (117)	22 (5,5)	0,080	329 (143)	22 (5,5)	0,066	200 (86)	21 (5,2)	0,105
èvre	265 (115)	33 (8,2)	0,128	321 (139)	20 (5)	0,062	161 (70)	56 (14)	0,347
uton	271 (117)	34 (8,5)	0,125	319 (138)	21 (5,2)	0,065	167 (72)	62 (15,5)	0,370
uf	269 (116)	34 (8,5)	0,126	320 (139)	21 (5,2)	0,065	165 (71)	60 (15)	0,353
mme	191 (83)	173 (43,2)	0,990	345 (150)	22 (5,5)	0,064	55 (23)	332 (83)	6, 03
ain	205 (88)	175 (43,7)	0,853	250 (108) 330 (143)	22 (5,5)	0,088 0,066	55 (22)	435 (108)	8, 55
c	179 (77)	192 (48)	1,072	320 (139) 370 (160)	22 (5,5)	0,068 0,059	22 (9)	412 (103)	8, 72
eval	200 (86)	227 (56,7)	1,031	329 (143)	22 (5,5)	0,066	60 (26)	410 (102)	6, 83

: Le chiffre donné entre parenthèse après la valeur en mg exprime la conversion de celle-ci en mEq/.

METABOLISME DE CES 2 ELEMENTS

1) Absorption :

L'étude des bilans de l'eau et des électrolytes, c'est-à-dire la comparaison des apports et des éliminations permet d'apprécier l'importance relative des différentes voies d'entrée ou de sortie de ces subtances. Le taux de minéraux dans le règne végétal qu'est la source de tels éléments d'autant que la ration pondérale est à prédominance végétarienne. Les apports sodiques se font essentiellement par voies digestives, en très grande partie par les aliments. Au niveau de l'estomac toutefois, le sodium va participer à la formation d'acide chlorydrique et les ions hydrogènes vont passer de l'estomac au plasma tandis que l'inverse se produit pour les ions sodium. L'absorption proprement dite, va donc se faire au niveau des différentes portions de l'intestin. Le sodium, en règle générale, suit le gradient de concentration et la perméabilité du grêle est si élevée que les facteurs physiques de diffusion apparaissent quantitativement les plus importants, les transports actifs n'ayant qu'un rôle de second plan. Les échanges les plus intenses se situent au niveau du jejunum, les plus faibles au niveau du colon. Cette absorption est modifiée par une forte concentration en potassium qui la diminue. Les hormones ont également leur action et c'est ainsi que les surrénales vont favoriser l'absorption des ions potassium et surtout des ions sodium, tandis que, de son côté, la post-hypophyse semble augmenter le transport actif des ions sodium.

L'alimentation végétale fournit beaucoup plus de sels de potassium alors que les teneurs en sodium sont réduites, souvent insuffisantes pour couvrir les besoins d'autant plus que cette forte teneur en potassium des plantes entraine chez nos herbivores une augmentation des besoins en sodium par suite d'une élimination excessive de cet élément. D'où la naissance de carences en sodium. Il faut ajouter toutefois que les sécrétions digestives déversent dans le tube digestif des électrolytes qui sont réabsorbés en partie. Ce phénomne est particulièrement important dans le cas de la salive chez les ruminants et dans le cas de la sécrétion gastrique dans toutes les espèces.

a) Au niveau des pré-estomacs : La muqueuse de la panse possède un pouvoir d'absorption sélectif vis à vis des ions inorganiques. 3 facteurs interviennent :

— la pression osmotique due aux différences de concentration ;

— la différence de potentiel entre le sang et le contenu de la panse qui active le passage des anions, inhibe celui des cations ;

— le transport actif à travers la muqueuse.

Le sodium est ainsi transporté dans le sang par un mécanisme actif de la muqueuse car le passage se fait contre une chute potentiel et contre une chute de concentration.

Le potassium, lui, est absorbé selon la loi de la chute des concentrations et passe dans le sang lorsque sa concentration dans la panse est triple de celle contenue dans le sérum.

b) Absorption intestinale : L'eau et les sels minéraux en solution sont absorbés soit par les cellules de l'épithélium, soit à travers les espaces intercellulaires. La vitesse d'absorption des solutions salines est proportionnelle à leur concentration tant qu'elles ne sont que faiblement hypertoniques ; les solutions fortement hypertoniques sont d'abord diluées par un afflux d'eau dans la lumière de l'intestin et par une résorption accrue de sels. Les différents ions minéraux sont absorbés à des vitesses différentes. Ainsi, par ordre de vitesse décroissante, on a :

Cations K Na Ca Mg

Anions Cl NO_2 SO_4 PO_4

2) Rôles :

a) Effets sur quelques processus enzymatiques :

— le glucose se transforme en hexose monophosphate grâce à l'hexokinase activée par les K^+, inhibée par Na^+.

— De même pour la phosphotransacétylase qui catalyse la réaction de formation de l'acétyl-coenzyme A.

— L'uréase est inhibée par K^+ et surtout par Na^+.

— Enfin, un rôle important joué par le chlorure de sodium de l'eau de mer qui en inhibant l'activité de l'anhydrase carbonique, permet la cristallisation du carbonate de calcium sous forme de calcite et non d'aragonite.

b) Effets sur quelques processus métaboliques :

— La consommation d'oxygène augmente dans les tissus quand les teneurs en Na^+ et K^+ augmentent. Elle diminue lorsque la teneur en ions calcium (Ca^{++}) augmente.
— Dans le métabolisme glucidique, l'ion Na^+ diminue la synthèse de glycogène tandis que l'action est inverse pour le K^+ qui va intervenir dans la dégradation glucidique en favorisant l'anabolisme protidique, ce qui le rend indispensable à la croissance.

c) Relations avec l'hydratation cellulaire : Le transport actif du sodium conditionne sa répartition de part et d'autre des parois cellulaires et, par conséquent, retentit sur la régulation osmotique des tissus. Le maintien du volume cellulaire est contrôlé par :

— L'intensité des échanges actifs $Na^+ \rightleftharpoons K^+$.
— L'intensité de l'entrée passive des Na^+.
— L'intensité de la sortie passive du K^+.

Sa co-rétention avec l'ion chlore (Cl^-) sous forme de chlorure de sodium détermine, grâce à ses effets hautement hydratants, une action mécanique de dilution sur les produits exogènes et endogènes. Cette rétention d'eau prévient également la déshydratation qui guette les fébricitants et les intoxiqués. La crise urinaire qui préside à la convalescence des maladies infectieuses, ne libère pas seulement une forte quantité d'ions Cl^- ; elle est aussi le prétexte d'un exode d'ions Na^+. Tout se passe comme si l'organisme éliminait les matériaux de défense, devenus désormais inutiles.

En marge de sa vertu hydratante, l'ion Na^+, par l'intermédiaire du chlorure de sodium assure, par ses effets osmotiques, la constance de l'équilibre physico-chimique indispensable à la vie. Il possède de surcroît des propriétés antiacidosiques : c'est un « tampon », principal support de l'alcalinité des humeurs. De même l'ion K^+ conditionne l'équilibre hydrique et acido-basique.

d) Relations avec les phénomènes bio-électriques :

— Le potentiel de repos est dû en partie à la différence de concentration du potassium à l'intérieur des cellules du système excitable (Ki) et à l'extérieur (Ke). Mais les gradients de concentration des autres ions interviennent également puisque l'inégale répartition des ions Na^+ et K^+ de part et d'autre de la membrane doit être maintenue pour que persiste ce potentiel.

— Dans le potentiel d'action, la soudaine dépolarisation des fibres nerveuses ou musculaires est la conséquence d'une rupture brutale de la sélectivité de la membrane pour les ions K^+, si bien que les ions Na^+ et Cl^- peuvent la franchir librement. On admet qu'il y a augmentation rapide, brève et très intense de la perméabilité aux ions Na^+ et seulement augmentation modérée et relativement prolongée aux ions K^+.

— Les fibres nerveuses, les nerfs, les muscles deviennent inexcitables lorsque la concentration du milieu extracellulaire en ions Na^+ est inférieure à 10 % de sa valeur physiologique. Toutefois ce taux varie avec les espèces.

— Disons aussi qu'il faut une concentration suffisante en ions Na^+ pour assurer la transmission de l'activation au niveau des jonctions synaptiques et neuro-musculaires. De plus, les ions Na^+ interviennent dans les processus de libération de l'acétyl-choline au niveau des terminaisons nerveuses en même temps que les ions K^+ et Ca^{++}.

— Dans l'activité cardiaque, les ions Na^+, K^+, Ca^{++} et Mg^{++} interviennent sur 4 caractères mécaniques de la contraction (fréquence, amplitude, durée, tonus). Pour une bonne activité cardiaque, les rapports $\frac{K}{Ca}$ et $\frac{K + Na}{Ca + Mg}$ doivent avoir des valeurs optimales moyennes, variables avec les espèces.

e) Autres rôles :

— L'ion K^+ favorise la diurèse aussi également que le chlorure de sodium qui agit, lui, par son action irritante sur le parenchyme rénal et également par la masse d'eau qu'il déplace avec lui, réalisant ce qui a été appelé une « véritable purge vasculaire ».

— Le chlorure de sodium a également un rôle excito-moteur sur le péristaltisme intestinal et parallèlement, il semble diminuer le pouvoir d'absorption de la muqueuse, action qui le fait participer à l'élimination de différentes substances toxiques.

— Ce corps aurait enfin un rôle névrosthénique.

3) Elimination :

a) Rénale : la fonction rénale joue un rôle essentiel et irremplaçable dans le maintien de l'équlibre hydrosodique de l'organisme. Le sodium, le potassium et l'eau sont principalement éliminés par le rein et accessoirement par d'autres voies. Un tableau nous montre que la concentration des électrolytes dans les urines est plus élevée que dans le plasma (La pression osmotique du plasma est voisine de 300 milliosmoles par litre tandis que celle de l'urine peut varier de 50 à 1200 milliosmoles par litre).

Substances	Plasma	Urines
Na^+ (mEq/l)	140	155
K^+ (mEq/l)	4,8	37
Protides (g/l)	80	0

— **Filtration glomérulaire :** le liquide qui apparaît dans le glomérule est un ultra filtrat plasmatique et sa composition électrolytique est sensiblement voisine de celle du plasma.

— **Réabsorption au niveau des tubes proximaux :** 85 % des ions Na^+ du filtrat glomérulaire sont réabsorbés dans le tube proximal par un processus actif. Il s'agit là de la réabsorption obligatoire de Smith. De même 90 à 95 % des ions K^+ sont réabsorbés à ce niveau.

— **Echanges au niveau des tubules distaux :** pour les ions Na^+, il s'agit là encore d'un transport actif et cet ion semble s'échanger avec les ions K^+ et H^+, échange qui dépend en partie de l'équilibre acidobasique des liquides extra-cellulaires.

— **Contrôles hormonaux :** l'ADH ou vasopressine semble sans action sur le transport actif des ions Na^+. L'aldostérone augmente la réabsorption des ions Na^+ aux niveaux proximal et distal. Les glucocorticoïdes ont une action mal définie, tantôt favorisatrice, tantôt inhibitrice de ces réabsorptions.

Il faut noter enfin que toutes ces hormones agissent ensemble, si bien que leur taux est fonction du taux de chacune auxquelles viennent s'ajouter les hormones de la médullo-surrénale que sont l'adrénaline et la noradréaline.

b) Extra-rénale : cette voie, beaucoup moins importante, est essentiellement représentée par les matières fécales qui sont riches en électrolytes, surtout chez la vache laitière ; et par la sueur dont la concentration en ions Na^+ varie avec les régions du corps et la durée de sudation. Les pertes se font également par voie pulmonaire et lors de la sécrétion lactée enfin.

Pour terminer, on peut dire que, bien qu'il contienne environ 70 % de son poids en eau, l'organisme animal ne dispose que de faibles quantité d'eau et d'électrolytes sous forme de réserve au sens propre du terme.

[Electrolytes du lait en g/l]

Espèces	Na	K	Cl
Jument	0,09	0,75	0,27
Vache	0,70	1,50	1,20
Brebis	0,33	1,88	0,71
Chèvre	0,08	1,43	0,14
Femme	0,20	0,80	0,50

Conclusion. — Le sodium et le potassium figurent parmi les substances qui jouent un rôle physiologique et un rôle biologique prépondérants. Ils ont à intervenir dans des processus métaboliques fondamentaux et leur répartition détermine en grande partie la valeur de l'hydratation des cellules. Enfin, ils contribuent largement, en compagnie d'autres ions, à maintenir ou à modifier la polarisation des systèmes excitables. Toutefois, beaucoup d'inconnues pèsent encore sur

leur métabolisme notamment en ce qui concerne sa régulation, leur élimination et ionisation, leurs rapports synergiques ou antagonistes.

II - CALCIUM

— **Distribution dans la nature** : il s'agit d'un constituant permanent des végétaux dont certains en accumulent des quantités considérables (algues calcaires) et servent parfois comme amendement. Ce calcium est également présent chez les végétaux sous forme d'oxalates (cristaux octaédriques, aiguilles, mâches...), ou de cystolithes, de combinaisons organiques dans les cellules, de combinaisons pectiques dans les membranes. Ces quantités varient avec les espèces (plantes calcicoles silifuges et plantes calcifuges silicoles), les organes et la composition chimique des terrains.

Chez les animaux, il occupe une place importante comme constituant cellulaire, qu'il se présente comme élément mobile ou actif du métabolisme ou qu'il soit immobilisé dans les appareils de soutien ou de protection. Il constitue le revêtement calcaire de nombreux groupes animaux et le squelette des vertébrés (phosphate bicalcique associé à du carbonate). Ainsi, chez ces vertébrés, 99 % du calcium sont inclus dans le squelette, le reste appartenant aux tissus mous et au sang.

— **Répartition dans l'organisme :** il convient tout d'abord de rappeler qu'il existe entre le calcium et le phosphore, comme il existait entre le sodium et le potassium, une relation fondamentale fonctionnelle étroite qui les rend inséparables. Réunis dans leurs formes de réserves (Phosphates de calcium et de magnésium du tissu osseux), ils sont libérés simultanément lorsqu'un déséquilibre humoral se produit. S'il est plus commode de les étudier séparément, leurs interrelations ne doivent jamais être perdues de vue. Un trouble du transit de l'un d'entre eux retentit automatiquement sur l'équilibre de l'autre. Ce transit est d'ailleurs d'autant plus complexe que ces éléments sont souvent engagés dans des combinaisons organiques.

Le calcium est l'élément minéral le plus abondant de l'organisme animal (1,6 à 2,0 %). Il vient après l'azote (2,4 %) et avant le phosphore. Il se trouve engagé dans des combinaisons insolubles ou peu solubles qui jouent un rôle plastique dans les structures ou les réserves et sous forme soluble ou ionisée qui exerce une action dynamique.

Combinaisons insolubles	Forme soluble
Phosphates (phosphate tricalcique)	Phosphates (Mono et bicalcique)
Carbonates (carbonate de calcium)	Citrates
Fluorures	Chlorures
Oxalates de calcium	

Résumons dans un tableau quelques teneurs en calcium et en phosphate chez les bovins

Age (Jours)	Ca total (g)	Ca p. 100 poids du corps	P. total (g)	P. p. 100 poids du corps	Ca/P
		Fœtus			
135	8,0	0,41	5,8	0,29	1,38
148	10,1	0,39	7,3	0,28	1,38
160-195	24,8-66,1	0,65	16,4--41,9	0,42	1,56
186	—	—	18,6	0,28	—
200	88,8	--	46,2	—	—
201-222	100,7-180,6	0,85	59,1-10,67	0,50	1,70
232-265	210,8-562,3	1,15	114,6-316,2	0,64	1,79
		Nouveau-né			
	366,3-705,7	1,30	215,4-372,2	0,72	1,80
	595,2-735,7	1,37	329,9-422,8	0,76	1,79

La presque totalité du calcium de l'organisme se trouve dans le squelette (99,5 % si l'on y inclut tendons et ligaments), l'os étant le tissu le plus minéralisé et le plus pauvre en eau de l'organisme. Cet os constitué d'une matrice protéique, l'osséine, sur laquelle se fixent les sels minéraux que sont principalement le phosphore tricalcique et en quantité bien plus faible, le carbonate et le fluorure de calcium. Ce calcium du squelette constitue une immense réserve où puisera l'organisme pour le maintien de son homéostasie.

La teneur en calcium des tissus mous est plus variable que leur teneur en phosphore et est généralement plus faible. Les organes riches en lipides (cerveau) ont la plus faible teneur (2 mg/100 g). Les muscles lisses, par contre, sont les plus riches (utérus avec 100 mg pour 100 g). Dans les muscles striés, le taux semble varier avec l'activité. Dans le rein, la teneur est normalement faible tandis que les phanères en contiennent des quantités notables.

Enfin il reste le calcium sanguin dont la presque totalité est localisée dans le plasma, les hématies n'en renferment que très peu. Cette calcémie est remarquablement constante grâce aux liquides extra-cellulaires qui mettent en relation les tissus de soutien avec le plasma (homme, chien, porc). Toutefois elle peut varier légèrement (lapin, bœuf, ovin). Le plasma est sursaturé en calcium bien qu'il n'y ait pas précipitation de phosphate tricalcique. Cette sursaturation est possible grâce aux protéines plasmatiques qui bloquent sous la forme de protéinates solubles près de la moitié du calcium total. Cette solubilité du calcium plasmatique est fonction de :

la concentration en orthophosphates

la concentration en protéines

le pH sanguin

l'équilibre ionique total et surtout la concentration en magnésium.

Voyons quelques valeurs de la calcémie plasmatique d'un certain nombre d'animaux, valeurs données en mg/100 et mEq/l entre parenthèse.

Cheval	:	9,0 - 16,0 (4,5 - 8)	Lapin	:	11,0 - 16,0 (5,5 - 8)
Bovin	:	8,5 - 11,5 (4,2 - 5,7)	Cobaye	:	10,5 - 12,5 (5,2 - 6,2)
Porc	:	7,5 - 15,0 (3,7 - 7,5)	Rat	:	9,5 - 11,0 (4,7 - 5,5)
Chien	:	9,6 - 12,5 (4,8 - 6,2)	Souris	:	10,0 - 10,5 (5 - 5,2)
Chat	:	8,0 - 11,5 (4 - 5,7)	Poule	:	9,0 - 12,0 (4,5 - 6)

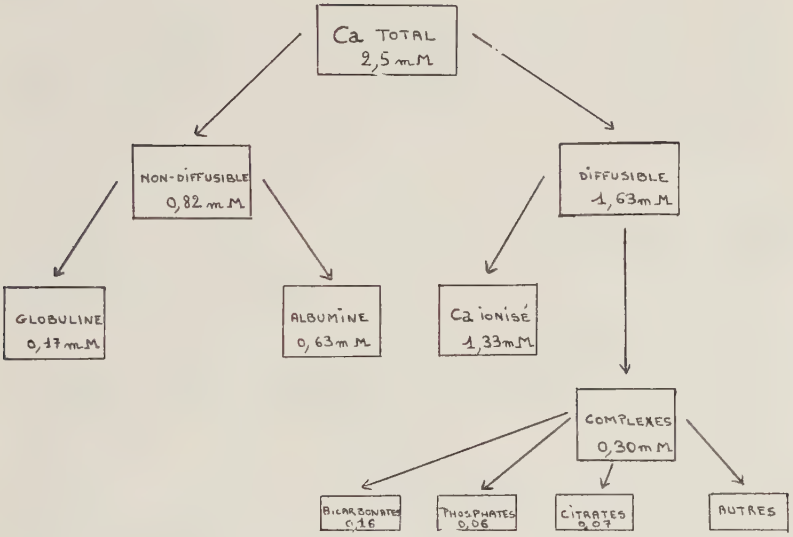
Le calcium sérique (lors de la coagulation du sang, la formation de fibrine n'entraîne pas de diminution significative du calcium) existe sous deux formes :

une forme non diffusible, non ultra-filtrable à travers les membranes semi-perméables, les parois capillaires et qui correspond à des albuminates de calcium surtout. Ses variations suivent en général celles des albumines du sérum et cette forme explique la pauvreté relative les liquides extra-cellulaires par rapport au sang ;

une forme diffusible, ultra-filtrable comprenant à son tour deux fractions : une fraction ionisée, la plus importante quantitativement ainsi que du point de vue physiologique car elle représente la forme active du calcium circulant (Ca^{++}) et intervient alors dans l'ossifaction, les processus enzymatiques (coagulation du sang et du lait), l'excitabilité neuro-musculaire.

Une fraction non ionisée correspondant alors à un complexe citrate calcique et à un phosphate ou un sulfate de calcium.

Voici dans un schéma, la part de ces différentes fractions :



Remarque : La possibilité de constituer des réserves de calcium et de phosphore dans le squelette est particulièrement importante pour le métabolisme de la vache laitière. Durant la deuxième moitié de la lactation et le tarissement, ce bilan est positif si l'alimentation est de bonne qualité et les dépôts osseux se remplissent ; pendant la première moitié de la lactation, les besoins ne sont pas totalement couverts, notamment chez les grandes laitières et alors ces réserves des dépôts sont utilisées.

METABOLISME CALCIQUE

1) Absorption et modalités :

L'apport calcique de l'organisme se fait essentiellement par les aliments solides et l'eau de boisson. Certaines plantes en contiennent des quantités appréciables (herbes des prairies, luzerne, trèfle, foins). Mais une partie du calcium éliminée par la muqueuse intestinale et celui des sécrétions digestives, résorbé par l'intestin, concourrent aussi au ravitaillement de l'organisme. Différents facteurs vont intervenir dans la régulation de cette absorption : la quantité de calcium présente dans le contenu intestinal ; la valeur du rapport phospho-calcique étant donné les étroites corrélations entre ces deux métabolismes. Le rapport optimal serait de 1,2 à 1,5 avec des limites pouvant aller jusqu'à 1 et jusqu'à 2 chez les bovins. Dans les conditions habituelles d'alimentation, il y a plus souvent excès de calcium chez les ruminants mais il ne faut guère attacher une importance trop grande à ce rapport car, comme THEILER l'a montré, il peut être optimal alors même que l'animal est carencé en phosphore et en calcium. Il faudrait plutôt, dans ce cas, faire intervenir le taux de chacun de ces 2 éléments séparément.

La présence des vitamines D qui activent l'absorption surtout en fonction de ce rapport Ca/P. Enfin intervient également la présence de certains éléments comme les acides phytique et oxalique, l'acide citrique, les lipides et les acides gras. A cela, il faut ajouter l'importance des besoins de l'organisme résultant de la croissance et des productions (gestation et lactation en particulier).

Les particularités de l'absorption au niveau des préestomacs sont inconnues. Par contre, au niveau intestinal, l'absorption se fait par transport actif du calcium alimentaire, surtout dans le duodénum. Vont intervenir également des monosaccharides, le fructose exerçant une action favorable, le glucose entravant le transfert calcique.

2) Utilisation :

Dès lors, ce calcium va se répartir dans les différents milieux de l'organisme, notamment dans le squelette et dans les dents. Dans le sang, la calcémie va se maintenir cons-

tante grâce à un grand nombre de mécanismes régulateurs parmi lesquels il faut faire intervenir une nouvelle fois les vitamines D avec leurs actions de mobilisation des sels osseux et sur l'excrétion rénale des phosphates. Des facteurs endrocriniens possèdent également un rôle important avec en premier chef, l'hormone parathyroïdienne qui agit surtout au niveau du squelette, véritable système tampon stabilisant les concentrations en calcium des liquides organiques. Elle a une action moindre sur le rein, l'intestin et la glande mammaire.

L'élément calcium va alors jouer deux rôles essentiels :

— **un rôle plastique :** il intervient surtout dans le phénomène d'ossification avec l'ion phosphate (PO_4^{---}), dans la constitution du tissu osseux ;

— **plusieurs rôles dynamiques :** ainsi, les ions Ca^{++} sont indispensables à la coagulation sanguine et nous verrons dans l'étude des protéides sanguins à quel niveau de ce phénomène ils interviennent.

Les ions Ca^{++} vont également se révéler nécessaires à la digestion du lait par la présure.

Enfin, ils interviennent au niveau de l'excitabilité neuromusculaire (ENM) en relation étroite avec d'autres ions. Ainsi ils entrent dans la formule de LOEB :

$$ENM = f \frac{[K^+ \quad Na^+]}{[Ca^{++} \; Mg^{++}]} \begin{matrix} \text{ions excitants} \\ \text{ions dépresseurs} \end{matrix}$$

$$ENM = f \left[\frac{[K^+, Na^+, CO_3HB, PO_4^{---}, \text{Protéines}]}{Ca^{++}, Mg^{++}, H^+} \right]$$

3) Elimination :

Le calcium est éliminé principalement par le rein et par l'intestin : 50 à 90 % du calcium excrété se trouvent dans les fèces mais l'élimination calcique urinaire reflète plus directement le taux de la calcémie que le calcium fécal. L'origine de ce calcium fécal est double avec d'une part le calcium alimentaire non réabsorbé et d'autre part le calcium endogène éliminé par les sucs digestifs et la muqueuse intestinale. La fraction alimentaire est très importante chez les herbivores.

Il faut dire que dans le lait, les pertes sont importantes. Le calcium est là en partie lié à la caséine ou combiné à l'acide phosphorique et à l'acide citrique. Chez la vache, le taux d'excrétion du calcium lacté est de 1,24 g/l.

Enfin, l'élimination par la sueur n'est pas négligeable.

4) Régulation :

La régulation du métabolisme calcique étant pratiquement liée à celle du métabolisme phosphoré, elle sera envisagée à l'issue de l'étude de ce dernier.

III - PHOSPHORE

— **Distribution dans la nature :** Le phosphore est un constituant fort anciennement connu de la matière vivante.

Chez les végétaux, il se trouve sous forme de sels de l'acide orthophosphorique (H_3 PO_4), de divers esters (hexoses, pentoses, trioses, inositols, glycérols, amino-alcool...), d'amides enfin. Ce phosphore minéral et organique se trouve noyé dans une masse de principes carbonés non phosphorés. Son taux, chez les végétaux, varie avec les conditions physico-chimiques des sols, les apports d'engrais, les irrigations, les circonstances climatiques ; interviennent également l'espèce végétale et ses variétés, l'âge de la plante (le pourcentage de phosphore est plus élevé dans la plante jeune). 50 à 70 % de ce phosphore se trouvent sous la forme de phytine, 5 à 10 % sont combinés avec des nucléoprotides et enfin, il existe 2 à 10 % de phosphore lipidique.

Chez les animaux, il correspond à peu près à 1 % du poids du corps. Il faut dire que 80 % de ce phosphore chez les vertébrés se retrouvent dans leur squelette sous forme de phosphates calciques et magnésiens tandis que le reste se distribue surtout dans les tissus mous, comme le muscle en particulier, ce qui permet d'affirmer qu'il existe une certaine ubiquité du phosphore.

— **Répartition dans l'organisme :** On trouve au total, 0,9 à 1,1 % de phosphore réparti dans l'organisme animal, mais cette constatation elle-même n'offre que peu d'intérêt

par suite de l'existence de très nombreux composés phosphorés, organiques ou minéraux, inégalement répartis dans les tissus et pouvant jouer des rôles différents :

Composés minéraux	Composés organiques
Orthophosphates de calcium	Hexoses et trioses phosphates
Orthophosphates de magnésium	Acide phosphoglycérique
Orthophosphates ammoniacaux-magnésiens	Acide phosphopyruvique
Orthophosphates de sodium	Acétyl phosphate
Orthophosphates de potassium	Acide phosphorique des phosphoaminolipides
	Acide phosphorique des nucléotides et phosphoprotéines (caséine, vitelline)
	Acide créatino-phosphorique

— 70 à 80 % de ce phosphore se trouvent dans le squelette sous forme de phosphates tricalcique et trimagnésien. Les tissus mous sont, en général, assez riches en phosphores : la chair musculaire en renferme de 160 à 200 mg pour 100 g, le cœur 200 mg, le foie 100 mg, le rein 50 mg. Dans le muscle, le phosphore persiste à l'état minéral et à l'état de combinaisons organiques. Dans les autres organes, les combinaisons organiques, essentiellement représentées par les lipides phosphorés, sont plus abondantes. Dans les viandes maigres, le phosphore minéral l'emporte mais il en va tout autrement dans les abats. Ce phosphore organique correspond à des composés phosphorés glucidiques provenant de la dégradation ou de la synthèse du glycogène comme les esters de CORI et de NEUBERG, à des lipides complexes comme les acides phosphatidiques, les amino-lipides, les sulfatides, à des phosphoprotéines enfin avec les nucléoprotéines localisées dans les noyaux cellulaires et les hétéroprotéines (caséine du lait, vitelline de l'œuf). Ajoutons, en dernier lieu, que la plupart des composés enzymatiques qui contiennent dans leur molécule une vitamine, renferment presque toujours, un ou plusieurs groupements phosphoryles.

Dans le sang, le phosphore se trouve également sous ces 2 formes, organique et minérale, le taux du phosphore total oscillant autour de 0,35 g/l. Les globules rouges sont riches en esters phosphoriques alors que les orthophosphastes minéraux se localisent presque exclusivement dans le plasma. Au pH sanguin, 20 % des phosphates minéraux du

sérum sont représentés par des phosphates monobasiques de formule $PO_4 H_2 Na$, et 80 % par des phosphates bibasiques de formule $PO_4 H Na_2$. La concentration des phosphates tertiaires est faible. Une fraction des phosphales minéraux est ultra-filtrable tandis que l'autres correspond aux complexes que l'ion phosphate [PO_4———] forme avec les protéines plasmatiques et à une petite quantité de phosphate tricalcique colloïdal non dialysable. Les composés phosphorés contenus dans les globules vont avoir un rôle local tandis que seules les combinaisons phosphorées du plasma représentent des formes de transport. Le taux de la phosphatémie minérale varie avec la nutrition, le moment de la journée, le travail musculaire : chez les bovins, la variation serait de 23 à 96 mg pour 100 ml de plasma. Pour le phosphore organique acido-soluble des bovins, les valeurs sont peu connues. Elles sont inconnues pour le phosphore de l'adénosine triphosphorique (ATP), de l'hexosephosphate et des phosphoglycérates. Pour les nucléotides du sang, le taux serait de 2,0 mg pour 100 ml d'hématies et de 0,8 mg pour 100 ml de sang.

Voyons dans un tableau, la répartition de quelques fractions phosphorées dans le sang d'un certain nombre d'animaux domestiques. Les valeurs sont exprimées en mg pour 100 ml de sang.

	Cheval	Bovin	Mouton	Porcin	Chien	Poule
Phosphore total	27	18	17	21	43	91
Phosphore lipoïdique	8,0	9,5	9,2	11,5	14,6	9,5
Phosphore nucléique	0,6	—	—	—	3,6	47,4
Phosphore inorganique	1,8	6	5	5,4	3,2	3,2

METABOLISME DU PHOSPHORE

1) Absorption et modalités :

Les apports de phosphore se font par l'alimentation sous forme minérale, les formes organiques étant hydrolysées dans l'intestin et livrant des phosphates. Les conditions de cette absorption sont identiques à celles qui régissent l'absorption du calcium.

Au niveau des pré-estomacs, l'absorption des ions phosphates est faible, voire nulle malgré l'existence d'une diffé-

rence de concentration et d'une différence de potentiel favorables, malgré la perméabilité de la muqueuse et l'accumulation d'une grande quantité d'ions phosphate dans le contenu de la panse par décomposition microbienne et enzymatique de la phytine après ingestion de certains aliments (céréales, sons...). La conservation de ces concentrations élevées d'ions phosphate doit être due à un phénomène actif.

Les composés minéraux phosphorés sont surtout absorbés au niveau de la partie inférieure de l'intestin sous certaines conditions de pH et d'équilibre avec le calcium. Toutefois, l'anion phosphate possède la vitesse d'absorption la plus lente par rapport aux autres anions.

2) Utilisation :

Avant toutes choses, il faut savoir qu'il n'y a pas indépendance complète entre les formes minérales et organiques. Le phosphore va alors jouer 2 sortes de rôles :

a) Rôles plastiques : il s'agit tout d'abord de l'importante part prise, dans le phénomène d'ossification, par le phosphore. Il entre ainsi dans la constitution du phosphate tricalcique dont la formule est analogue à celle d'une apatite [$3\ Ca_3\ (PO_4)\ 2\ H_2\ (OH_2)$]. Par contre, dans les cartilages, il reste sous un état chimique mal connu. Enfin, toujours dans l'os, il persiste à l'état de combinaison avec les protéines de structure.

Le phosphore a également un rôle plastique en tant que constituant de l'acide phosphorique des nucléotides (ADN et ARN). L'ion phosphate est nécessaire à l'élaboration de la caséine du lait et de la vitelline de l'œuf. Il intervient dans les phosphoaminolipides.

Cet ion entre dans la composition de diverses coenzymes comme par exemple la cocarboxylase qui n'est autre que l'ester pyrophosphorique de la thiamine, le ferment jaune, la cozymase, le coferment de WARBURG, la pyridoxinephosphate.

Le phosphore joue un rôle encore mal déterminé dans la genèse des chaînes polypeptidiques des protéines. De même, les acides gras sont transportés, catabolisés ou utilisés pour la synthèse des graisses neutres sous forme de dérivés phosphorylés.

Enfin, il intervient dans le métabolisme glucidique.

b) Rôles dynamiques : les ions phosphates vont intervenir tout d'abord à la base du grand phénomène de la phosphorylation. Ce phénomène intervient dans le mécanisme de la résorption intestinale, dans l'élimination rénale, le transport des lipides, l'utilisation des glucides, des lipides et des protides.

Les ions phosphates, puisqu'ils représentent la forme active du phosphore, vont avoir une grande action dans les transferts d'énergie avec la liaison phosphatée riche en énergie (ATP et ADP).

Ils interviennent au niveau de l'excitabilité neuro-musculaire où ils entrent comme ions excitants dans la formule de LOEB.

Enfin, ils ont un grand rôle dans le maintien de l'équilibre acido-basique. En dehors des facteurs plasmatiques et globulaires du sang, du facteur pulmonaire, la régulation de l'équilibre acido-basique met en jeu un facteur rénal qui intervient par 3 mécanismes différents :

— Excrétion des radicaux acides libres (acides organiques) ;

— Formation d'ammoniaque qui remplace dans l'urine les bases fixes ;

— Enfin, élimination des phosphates monométalliques à partir des phosphates bimétalliques du plasma.

3) Elimination :

L'élimination du phosphore se produit par le rein et par l'intestin. Chez les herbivores, l'excrétion fécale l'emporte sur l'excrétion urinaire mais il en va différemment chez les carnivores. Les phosphates de l'urine sont à l'état de phosphates alcalins et alcalino-terreux. Ils dérivent des orthophosphates du sérum par filtration glomérulaire suivie de réabsorption tissulaire et d'hydrolyse au niveau des tubuli, des esters phosphoriques par une phosphatase alcaline.

La production de lait entraîne une importante élimination de phosphore sous forme organique comme la caséine mais aussi sous forme minérale avec les phosphates de calcium. Le taux de phosphore du lait est de 0,90 g/l.

Le sperme en contient sous des formes diverses tandis que la sueur, enfin, ne renferme que de simples traces de phosphates.

4) Régulation du métabolisme phospho-calcique :

Elle est complexe.

a) **Contrôle physico-chimique :** l'introduction dans l'organisme de quantités importantes de calcium et de phosphore n'est suivie que d'une répercussion faible et transitoire sur la calcémie et la phosphorémie. L'élimination, rapidement mise en jeu, et la dissimulation des éléments dans le tissu osseux, permettent le maintien de l'homéostasie. Inversement, en cas de pénurie de calcium et de phosphates, le tissu osseux en met en circulation.

b) Régulation hormonale : elle se fait surtout par les parathyroïdes.

La parathormone se compose, chez les bovins de 2 fractions : la parathormone A (PM 4000 à 6000) et la parathormone B (PM 10 000). Cette parathormone agit à la fois sur le rein où elle stimule l'élimination des phosphates en entravant leur réabsorption tubulaire mais également au niveau de l'os où elle favorise la mobilisation des sels minéraux, le calcium en particulier : la calcémie et la phosphorémie s'élèvent alors et l'élimination des phosphates augmente ce qui va empêcher le dépôt de calcium sous forme de phosphate calcique dans le tissu osseux. A cette augmentation de la calcémie fait suite une diminution de l'excrétion de parathormone et le dépôt de calcium dans l'os se trouve favorisé.

Remarques : Une hypoparathyroïdie aigüe s'installe assez souvent chez les animaux domestiques au moment de la lactation lorsque de grandes quantités de calcium sont excrétées par la mamelle et la mobilisation de tout ce calcium ne suffit pas à couvrir les besoins (tétanie du part). L'activité fonctionnelle de la glande dépend de la constitution des sujets ; en cas d'accroissement soudain des besoins, certains animaux ont une prédisposition à ces accidents par suite d'une déficience d'origine génétique dans l'aptitude à la synthèse de l'hormone. Dans ce cas, il n'y a pas carence en calcium car ce sont le plus souvent des animaux sélectionnés, bien

nourris, avec de grosses réserves calciques. Il s'agit simplement d'une moindre capacité de régulation qui ne permet pas une mobilisation assez rapide de ces réserves.

La teneur en calcium de la ration va aussi avoir une grande importance dans les semaines qui précèdent le part en diminuant l'activité fonctionnelle des glandes et par là même cette capacité de régulation. Il convient donc d'éviter un apport excessif de calcium dans l'alimentation des femelles gestantes dans les dernières semaines avant la lactation.

L'antéhypophyse : son action est surtout indirecte dans le transit phosphocalcique du fait du rôle de l'hormone somatotrope dans la croissance osseuse.

La thyroïde : elle favorise la croissance. L'hyperthyroïdie a pour conséquence une augmentation de l'élimination du calcium et il se produit, parfois, une raréfaction du tissu osseux par mobilisation des sels de calcium. Cette action est à prendre en considération dans l'utilisation de la thyroxine ou des protéines iodées chez la vache laitière, l'augmentation de la production lactée entraînant, de surcroît, une augmentation des pertes calciques. Dans ces conditions, si l'alimentation n'est pas modifiée, le bilan calcique devient négatif. Cette action de la thyroïde est due à la présence d'une hormone particulière, la thyrocalcitonine composée d'une chaîne polypeptidique unique d'un poids moléculaire voisin de 8 700. Cette thyrocalcitonine, hypocalcémiante et hypophosphatémiante, agit directement sur l'os, indépendamment de la parathormone, en bloquant plus ou moins la résorption osseuse.

Les gonades : elles stimulent la croissance aux doses moyennes, l'inhibent aux doses plus élevées.

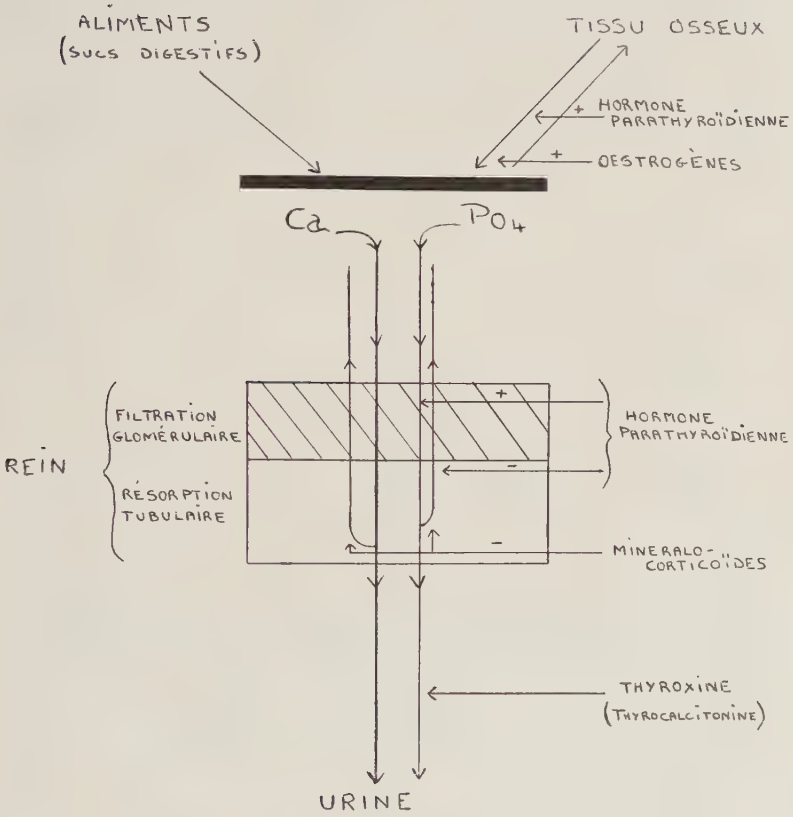
c) Régulation vitaminique :

— **La vitamine A :** elle joue un rôle dans la synthèse des protéines.

— **Les vitamines D :** elles règlent l'absorption intestinale du calcium et exercent une action locale au niveau de l'os.

— **L'acide ascorbique :** il agit sur la synthèse des protéines de structure osseuse.

Il est utile de résumer, grâce à un schéma, les éléments essentiels qui sont intervenus dans cette régulation.



IV - PROTEIDES PLASMATIQUES

Les protéides plasmatiques forment un ensemble de protéides divers, différant les uns des autres par leur structure et par leur rôle. Dans les conditions normales, leur concentration varie dans de faibles proportions, mais que survienne un trouble et il apparaît alors des modifications caractéristiques soit de la quantité, soit des proportions des différentes fractions constitutives, modifications que l'on peut mettre à profit pour établir un diagnostic ou formuler un pronostic. Voici sur ce tableau quelques teneurs du sérum en protéides d'animaux domestiques. Les valeurs sont en pour 100.

Cheval	:	6,8 (6,6 - 7,6)
Bovins	:	6,7 (6,4 - 7,1)
Mouton	:	6,5 (6,2 - 7,0)
Porc	:	7,5 (6,5 - 8,5)
Chien	:	6,7 (6,1 - 7,5)
Lapin	:	7,2 (6,0 - 8,3)
Cobaye	:	6,2 (5,6 - 6,5)
Rat	:	6,3 (5,9 - 6,8)
Poule	:	4,7 (4,3 - 5,3)

La proportion des différentes fractions constitutives varie toutefois selon l'espèce animale et, tandis que chez l'homme, le taux des albumines est supérieur à celui des globulines, c'est l'inverse chez les animaux de la ferme.

On peut les séparer de différentes façons :

— précipitations par les sels neutres $[(NH_4)_2\ SO_4]$
— précipitation par l'alcool
— précipitation par l'acétone
— par ultracentrifugation.

Mais on utilise surtout les diverses techniques d'électrophorèse. Les protéides du plasma, qui représentent la presque totalité des éléments azotés, ont une composition relativement complexe. On trouve dans ce plasma, une albumine : la sérumalbumine et de très nombreuses globulines dont le

fibrinogène, les globulines α (α_1, α_2, α_3), et β (β_1, β_2) et γ (γ_1, γ_2). Le tableau suivant, nous montre, chez l'homme et chez quelques animaux, la part de chacune de ces fractions en pour 100 des protides totaux.

Espèces	Albumine	α_1	α_2	α_3	β	Fibrinogène	γ
Homme	59	7	9		11	5	9
Cheval	30	8	13		22	16	11
Bovin	40	11	8		14	16	11
Porc	40	6	17		8	14	15
Mouton	43	10	7		15	10	15
Chien	40	17	8		13	13	9
Chat	41	8	20	5	9	5	12
Lapin	63	12			13	8	4
Cobaye	54	4	4	15	9	8	6
Rat	60	15				20 (1)	5
Pigeon	64	7	4			17 (1)	8

(1) Fibrinogène + globuline.

Enfin, si l'on précipite ces protéides plasmatiques à l'aide de l'acide trichloracétique par exemple (défécation du sang), il reste encore en solution, une certaine quantité d'azote que l'on désigne sous le nom d'azote non protéique, d'azote restant ou encore d'azote résiduel et qui correspond à un ensemble de substances comme l'urée, l'ammoniaque, quelques acides aminés, des polypeptides, de la créatine et de la créatinine, de l'acide urique, de la guanidine, de l'uridoxyl, des vitamines et un certain nombre de pigments. Ce sont toutes des molécules à bas poids moléculaire.

ORIGINES ET ROLES DE CES PROTEIDES

1) Origines :

a) Exogène : Ce sont les protéides alimentaires avec d'une part les protéines constituées par un ensemble d'acides aminés et d'autre part les hétéroprotéines couplées à un groupement prosthétique, qui vont fournir, à la suite de l'action des sucs digestifs (enzymes protéolytiques) et des

attaques microbiennes, les acides aminés. Ceux-ci représentent la forme d'absorption. Après avoir été pris en charge par les cellules épithéliales, ces acides aminés sont emportés essentiellement par le système porte et en plus faible quantité par la lymphe. Il y a également absorption accessoire de polypeptides simples. Cette absorption se fait, pour chaque constituant, à des vitesses différentes.

b) Endogène : les enzymes protéolytiques intracellulaires assurent la destruction des protéines tissulaires et libèrent ainsi les acides aminés constitutifs qui sont repris par la circulation. Enfin, certains acides aminés sont formés directement par synthèse à partir des produits de dégradation du glucose.

Les acides aminés et les quelques di ou tripeptides absorbés par les capillaires de la veine porte sont ensuite retenus par le foie ainsi que par les muscles qui en mettent une certaine quantité en réserve, ne les libérant qu'en cas de besoin.

c) Etude particulière :

— **Le fibrinogène.** C'est une substance très labile qui présente des fluctuations de 20 à 25 % en fonction de l'alimentation : un régime riche en protéines en favorise les taux élevés alors qu'il en va tout autrement lors d'alimentation ternaire ou de jeûne. La plupart des auteurs en localisent sa synthèse au niveau du foie mais il faut très certainement invoquer le rôle d'autres organes comme l'intestin, le système réticulohistiocytaire de la moelle osseuse et des leucocytes, les érythrocytes. En bref, la fibrinogénèse correspond à la formation de précurseurs dans de nombreux tissus, suivie d'un remaniement hépatique, le matériel nécessaire étant de nature endogène et se trouvant dans l'organisme sous une forme particulièrement labile. Citons pour terminer quelques taux de fibrinogène en mg pour 100 ml de sang. Il existe de grandes variations de cette teneur selon les espèces et les individus. C'est ainsi que le taux de fibrinogène est plus élevé chez le jeune.

Cheval	:	300 (260-350)
Bovin	:	600 (400-700)
Porc	:	500 (350-650)
Chien	:	250 (150-300)
Mouton	:	360 (250-450)

— **Les protéides seriques :** Les serumalbumines ont une synthèse plus lente que celle du fibrinogène, cette synthèse faisant appel à des matériaux exogènes et endogènes. Toutefois, en raison de leur turn over rapide, elles peuvent être fixées par la plupart des organes qui les utilisent alors pour la synthèse des protéines spécifiques à chacun d'entre eux ; elle servent donc à couvrir les besoins en protides des organes. Leur renouvellement s'effectue dans le foie.

Pour les globulines, le foie n'intervient que partiellement dans leur synthèse. Il s'agit en fait d'un renouvellement constant, continuel des molécules protidiques entre les tissus et le milieu intérieur. Donc cette régénération se fait surtout aux dépens des protéines tissulaires et également grâce aux protides alimentaires et selon leur coefficient d'efficacité. Le foie n'a qu'un petit rôle avec le soutien de la moelle osseuse (plasmocytes) et du système réticulohistiocytaire.

2) Rôles :

a) Général : Toutes ces protéines participent à la viscosité du sang permettant ainsi le maintien de la pression sanguine et l'existence d'une couche adhésive qui augmente la durée de contact contre les parois capillaires et par là même, facilite les échanges.

b) Particulier :

— **Le fibrinogène :** c'est l'un des agents essentiels de la coagulation sanguine, phénomène au cours duquel il est transformé en fibrine grâce à une enzyme protéolytique qui catalyse cette réaction, la thrombine, elle même dans le sang sous la forme d'un précurseur ou prothrombine (α_2 globuline). Le passage de la prothrombine à la thrombine exige la présence d'ions Ca^{++} et d'une enzyme : la thromboplastine. La thrombine va alors détacher des fragments polypeptidiques du fibrinogène. Ces fragments se polymérisent ensuite en unités plus volumineuses (fibrine) et se réunissent alors en un réseau fibrillaire dans lequel sont emprisonnés les éléments figurés.

— **Les serumalbumines :** elles interviennent surtout dans la régulation colloïdo-osmotique (80 % de l'effet osmotique

global des protides sanguins) grâce à leur pouvoir oncotique. Cette pression oncotique des protides sanguins s'oppose à la pression hydrostatique du sang, empêche la sortie de trop grandes quantités de liquides plasmatiques dans la région des capillaires artériels ; dans les capillaires veineux, la pression oncotique des colloïdes du plasma permet la réabsorption d'une partie de l'eau tissulaire. Ce rôle principal est possible grâce à leur poids moléculaire qui est inférieur à celui des globulines. Elles possèdent encore une importante fonction de transport, en particulier pour les acides gras et les pigments biliaires qui sont dans le sang sous forme de complexes liés aux albumines. Enfin, en pathologie, il faut savoir que cette fraction diminue surtout dans les affections hépatiques car elles sont en grande partie synthétisées dans cet organe.

— **Les α et β globulines :** Elles servent, beaucoup plus spécifiquement aux fonctions de transport des lipides et des métaux, plus précisément des stérols (cholestérol), des stéroïdes (hormones stéroïdes), des phosphatides et des acides gras ; c'est pourquoi il y a une proportion importante de lipoprotéïnes dans ces deux fractions globuliniques. Les métaux lourds sont transportés par une β globuline avec, en premier lieu, le Fer, le Cuivre et le Zinc. La concentration de cette globuline conditionne le pouvoir de fixation du Fer du sérum des animaux domestiques. Enfin, disons que le taux des α augmente dans l'histolyse.

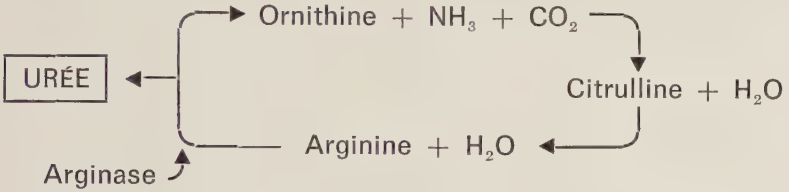
— **Les γ globulines** : Elles contiennent des protides hétérogènes ayant avant tout des propriétés anticorps (Immunglobulines). Chez l'adulte, elles représentent environ 11 % des protéines sériques et forment un ensemble de composés physico-chimiques très voisins, qu'il est difficile d'isoler individuellement. Elles sont absentes du sérum des mammifères à la naissance. Ainsi se forment les anticorps spécifiques de chaque espèce microbienne à la suite de l'immunisation de l'organisme contre chacune d'entre elles. Il faut y ranger les précipitines, les aglutinines, les lysines. Elles augmentent dans beaucoup de maladies infectieuses chroniques.

— **De nombreuses enzymes :** On trouve des hydrolases, des transférases, des transhydrogénases.

ELIMINATION

I - FORMATION DE L'UREE :

Au niveau du foie se déroule le cycle de KREBS-HENSELEIT qui aboutit à la formation de l'urée.



II - EVOLUTION ULTERIEURE DU RADICAL DESAMINE :

a) Formation du glucose : Dans le foie grâce aux acides aminés dits gluco-formateurs.

b) Formation de corps cétogènes : Les acides aminés cétogènes après désamination suivent un cycle identique à celui des acides gras et donnent des corps cétoniques (acide β hydroxybutyrique, acide acétylacétique, acétone).

c) Catabolisme spécial de quelques acides aminés :

— **Glycocolle :** il se combine à l'acide benzoïque pour donner de l'acide hippurique qui passe dans les urines. Il est également à l'origine de l'acide glycocholique, de la protoporphyrine, des purines et de la créatinine.

— **Tyrosine, phénylalanine, dioxyphénylalanine :** elles donnent de l'acide homogentisique (alcaptone).

— **Cystine :** on parvient ainsi au glutathion et au coenzyme A, par oxydation, à la cystéine, la taurine, l'acide taurocholique.

d) Elimination urinaire : Elle se fait principalement sous forme d'urée et de quelques autres corps comme l'acide hippurique. Toutefois il y a toujours une faible aminoacidurie physiologique.

METHODE DES DOSAGES DES PRINCIPAUX ELECTROLYTES

I - MODALITES DES PRELEVEMENTS :

Nos prélévements se sont étalés sur trois mois, allant du 4 octobre 1966 au 22 décembre de cette même année. Il ne fut tenu aucun compte de l'âge des bovins sur lesquels nous avons pratiqué les prises de sang, ni de leur race. Par contre, en ce qui concerne leur état sanitaire, nous nous sommes efforcés de ne choisir que des animaux ne présentant apparemment aucun signe d'une affection quelconque susceptible de modifier leur équilibre sanguin. Les prélèvements eurent lieu à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse notamment sur des jeunes bœufs charolais du laboratoire de physiologie ne subissant aucune expérimentation particulière jusqu'alors, et à l'abattoir de Fenouillet sur des animaux le plus souvent assez vieux. Une mention spéciale toutefois doit être faite de 6 prélèvements effectués le 7 novembre 1967 sur des bœufs gascons âgés de 3 ans, hyperimmunisés, appartenant à l'Institut de Séropthérapie de Toulouse. Enfin, différentes mesures ont été pratiquées à la suite d'envoi de prélévements de sang provenant d'animaux intoxiqués par les pommes (il y en eu 4) et une pour un bovin atteint de météorisation chronique.

Notre technique de prélèvements a toujours été la même, à savoir que nous avons ponctionné, après les mesures d'usage d'asepsie, la veine jugulaire des animaux à l'aide d'une aiguille hypodermique au début, puis d'un trocart plus conséquent ensuite. Ceci à cause de la trop grande lenteur du prélèvement avec l'aiguille qui ne va pas sans inconvénient. Le volume de nos prélèvements a atteint ainsi 100 ml

pour chaque bovin, répartis dans 2 tubes à centrifuger. Nous avons immédiatement procédé à une centrifugation à 7000 tours minute pendant 10 minutes afin d'obtenir le sérum sanguin. Dès lors il ne restait plus qu'à transvaser à l'aide de pipettes propres ce sérum dans des bécher de 50 ml, portant chacun sur une étiquette certaines caractéristiques de l'animal donneur quand nous pouvions nous les procurer (race, sexe, âge, poids pour certains) et la date du prélèvement. Ce dernier était alors conservé au réfrigérateur à + 4° C en attendant les différentes analyses que nous avions décidé de pratiquer.

Nous avons remarqué au sujet de ces prélèvements, toujours faits en l'absence d'anticoagulant qu'il était nécessaire qu'il ne s'écoule qu'un laps de temps très réduit entre ce prélèvement proprement dit et la centrifugation. Si cette règle n'était pas observée, il nous fallait alors bien souvent répéter la première opération, une hémolyse importante s'étant alors produite.

Le tableau ci-contre vient résumer toutes ces données :

N° d'ordre	Race	Sexe	Age	Poids en Kg	Particularités
1	Charolaise	M	2 ans	539	Début hémolyse
2	Charolaise	M	2 ans	509	
3	Charolaise	M	2 ans	506	
4	Charolaise	M	2 ans	457	
5	Charolaise	M	2 ans		
6	Charolaise	M	2 ans		
7	Charolaise	M	2 ans		
8	Charolaise	M	2 ans		
9	FFPN	F			
10	Aubrac	F			
11	Normande	F	10 J		
12	FFPN	M	1 mois		
13	Flamande	F	11 ans	450	
14	Normande	F	7 ans	400	
15	FFPN	F	10 ans	550	
16	FFPN	F	5 ans		
17	FFPN	F	8 ans		
18	FFPN	F	13 ans		
19	FFPN	F	9 ans		
20	FFPN	F	10 ans		
21	Normande	F	10 mois		
22	Normande	F	9 ans	450	Gestante de 6 mois
23	FFPN	F	10-11 ans	400	Gestante de 5 mois
24	Schwitz	F	3 ans	600	
26	FFPN	F	10 ans	550	
27	FFPN	F	15 ans	600	
28	Normande	F		500	
29		F			Hémolyse
30		F			Hémolyse
31		F			Hémolyse
32	Gasconne	M	3 ans		Hyperimmunisé
33	Gasconne	M	3 ans		Hyperimmunisé
34	Gasconne	M	3 ans		Hyperimmunisé
35	Gasconne	M	3 ans		Hyperimmunisé
36	Gasconne	M	3 ans		Hyperimmunisé
37	Gasconne	M	3 ans		Hyperimmunisé
100		F			Intoxication par les pommes
101		F			Intoxication par les pommes
102		F			Intoxication par les pommes
103		F			Intoxication par les pommes
104		F			Météorisation chronique

II - SPECTROPHOTOMETRIE DE FLAMME :

Nous avons utilisé cette technique pour réaliser les dosages de sodium et de potassium sériques.

— Définition :

La spectrophotométrie de flamme est une technique d'analyse spectrale d'émission qui utilise la flamme comme source d'excitation. L'énergie nécessaire à la production des états excités des atomes et des molécules vient de l'agitation thermique des gaz chauds.

La substance à doser est mise en solution et cette solution est pulvérisée par un dispositif convenable au sein d'une flamme. La radiation caractéristique de l'élément à doser est alors isolée au moyen d'un monochromateur. L'intensité des raies est fonction de la concentration de la solution et on la mesure grâce à une cellule photoélectrique.

— Principe :

Le sodium, le potassium mais aussi plusieurs autres éléments connus donnent des couleurs caractéristiques lorsqu'on les pulvérise sur une flamme BUNSEN. Le fait remarquable est que la luminosité de cette flamme varie avec la quantité de sodium ou de potassium, pour les éléments qui nous occupent, contenue dans la solution.

La méthode d'excitation dans la flamme est la suivante : un petit volume de la solution d'un échantillon est placé dans la coupe d'un atomiseur. Un mélange d'air ou d'oxygène avec un gaz combustible arrivent à l'atomiseur avec un certain débit et la solution est vaporisée dans un brûleur spécial. Dès lors : l'eau ou un autre solvant s'évapore, laissant quelques fines particules du sel ou du mélange de sels.

— Dans la haute température de la flamme, les sels ou leurs composants se vaporisent et peuvent également se dissocier en leurs atomes constituants ou en radicaux.

— Les vapeurs d'atomes métalliques ou des molécules contenant ces atomes sont alors excités par l'énergie thermique de la flamme. Pour le sodium et le potassium, le spectre d'émission qui en résulte est un spectre de raies. La radiation caractéristique de l'élément est isolée grâce à un monochromateur et son intensité mesurée par la méthode dite de la « lecture directe », c'est-à-dire qu'après avoir choisi la

longueur d'onde convenable, on pulvérise la solution étalon de l'élément afin de régler le zéro de l'appareil, puis on pulvérise la solution dont on veut déterminer la concentration en l'élément étudié. La longueur d'onde choisie doit être aussi voisine que possible de celle pour laquelle la solution montre le maximum d'absorption sélective, ce qui permet d'atteindre la sensibilité maximale. Nous verrons ultérieurement quelles longueurs d'ondes ont été prises pour les mesures du sodium et du potassium. On lit alors directement sur le galvanomètre les déviations de l'appareil de mesure monté sur un photomultiplicateur et on relie cette mesure à la concentration en se rapportant à une courbe d'étalonnage.

— **Technique :**

1) L'appareil :

Toutes nos expériences ont été réalisées avec un spectrophotomètre de type BECKMANN DU comprenant essentiellement :

— Une source de radiations composée ici d'un brûleur à oxygène et à hydrogène. Il faut souligner ici la grande importance du réglage des pressions et du débit des gaz pour que la flamme soit stable et constante. La température ainsi atteinte est de l'ordre de 2800°C. A ce brûleur est associé un nébulisateur dont le rôle est d'introduire à l'intérieur de la flamme un aérosol. Pour ce faire, il s'agit là d'un capillaire monté dans l'axe du tube amenant les gaz.

— Un monochromateur qui est ici un prisme de 60° dont le principal inconvénient est d'absorber beaucoup d'énergie ce qui a pour conséquence, l'utilisation de fentes plus grandes.

— Enfin, un récepteur composé d'une cellule photoélectrique associé à un photomutiplicateur d'électrons, la lecture se faisant sur un galvanomètre.

2) Mesures :

a) Préparation des échantillons : En ce qui concerne les échantillons étalons, nous avons utilisé des solutions de chlorure de sodium et de chlorure de potassium qui nous ont permis d'obtenir un nombre de milliéquivalents égal à 200 pour le sodium et à 8 pour le potassium par litre de solution.

Pour ce qui est des échantillons à analyser, il faut savoir qu'il existe dans le sérum différents agents ou substances susceptibles de déterminer, dans les dosages du sodium et du potassium sériques, des interférences conduisant ainsi à des résultats instables. Plus précisément, on détermine que la présence des protéines dans le sérum peut provoquer ces grosses erreurs dans la méthode précisément choisie, erreurs pouvant atteindre 10 et même parfois 20 %. De ce fait, il convient d'éliminer ces protéines sériques par précipitation.

Nous avons utilisé à ce sujet, un défécant contenant 5 % d'acide trichloracétique et 10 % d'alcool isopropylique dans de l'eau distillée : on met 25 ml de ce défécant dans un tube à centrifuger, on y ajoute soigneusement 0,25 ml de sérum à tester. On évite d'agiter violemment et on laisse reposer une dizaine de minutes. On centrifuge ensuite pendant 5 à 10 minutes jusqu'à obtenir un surnageant clair. La dilution obtenue est alors de 1/100^{e} mais on reste libre de choisir une autre dilution selon la précision que l'on veut donner à la mesure. On fait de même avec l'échantillon étalon.

Disons, pour être plus complet, que l'interférence mutuelle du sodium et du potassium, dans les proportions rencontrées dans le sérum, est négligeable.

b) Conduite d'une mesure : Nous avons utilisé la technique de la « lecture directe ». Nous allons envisager la conduite d'une mesure pour le sodium. Pour ce qui est du potassium, la manipulation étant identique, nous ne mentionnerons que les précautions à prendre quant au choix de la radiation.

Pour le sodium, la longueur d'onde optimale de la radiation émise est de 589 millimicrons (mμ) ce qui va nous donner une détection minimum de 0 à 0,01 ppm. Nous utiliserons donc une cellule bleue avec une fente de 0,10 mm.

Dans un premier temps, il faut pulvériser l'eau distillée afin de rincer les organes du brûleur-nébulisateur. Pour assurer le fonctionnement du brûleur, nous disposions d'une bouteille d'hydrogène sous 0,7 kg de pression. Dans un deuxième temps, on pulvérise de l'eau distillée afin de régler le zéro de l'appareil. Puis on passe à la solution étalon qui donne alors le 100 % de la transmission.

On rince à nouveau à l'eau distillée et on passe le sérum. La lecture se fait directement sur le galvanomètre. Cette lecture est donnée en pourcentage de transmission et il est alors nécessaire de reporter ce pourcentage sur une courbe

d'étalonnage semi-logarithmique préalablement établie et portant en abcisses les concentrations de sodium en milliéquivalents, en ordonnées leur pourcentage de transmission correspondant.

Pour le potassium, il en va de même, mais il faut cette fois utiliser une longueur d'onde optimale de 768 mμ donnant une précision de 0 à 0,5 ppm et pour cela, nous avons utilisé une cellule rouge et une fente de 0,50 mm. La lecture directe se fait également, grâce au galvanomètre, en pourcentage de transmission que l'on reporte sur une courbe d'étalonnage.

3) Résultats et interprétations :

N° d'ordre	Na (mEq/l)	Na (g/l)	K (mEq/l)	K (g/l)	N° d'ordre	Na (mEq/l)	Na (g/l)	K (mEq/l)	K (g/l)
1	119	2,75	4,7	0,19	22	104	2,40	5	0,20
2	152	3,50	5,5	0,22	23	177	4,08	4,2	0,17
3	153	3,53	5,7	0,23	24	121	2,80	4,7	0,19
4	140,4	3,23	4,5	0,18	26	109	2,52	7,2	0,29
5	110,8	2,55	5	0,20	27	168	3,88	6,7	0,27
6	138	3,20	4,5	0,18	28	168	3,88	5,4	0,215
7	143	3,30	5,7	0,23	29	179	4,12	6,5	0,26
8	182	4,20	5,2	0,21	30	149	3,44	5,5	0,22
9	146	3,36	4,7	0,19	31	200	4,60	4	0,16
10	159	3,66	3,8	0,157	32	129	2,98	5	0,20
11	159	3,66	5,7	0,23	33	117	2,70	6	0,24
12	113	2,60	5,2	0,21	34	135	3,12	5,2	0,21
13	106	2,44	4,5	0,18	35	159	3,66	5,7	0,23
14	135	3,12	4,2	0,17	36	147	3,40	4	0,16
15	165	3,80	6	0,24	37	139	3,20	4,2	0,17
16	113	2,60	6,2	0,25	100	173	4,00	5,7	0,23
17	134	3,10	4,5	0,18	101	128	2,95	4,5	0,18
18	160	3,70	5	0,20	102	138	3,18	6,7	0,27
19	95	2,20	4,7	0,19	103	172	3,96	5,2	0,21
20	172	3,96	5,5	0,22	104	173	4,00	6,6	0,267
21	177	4,08	5,7	0,23					

Tous ces résultats vérifient, dans une large mesure, la relation constante du potassium dans le sérum ainsi que sa faible concentration, cet élément étant essentiellement intracellulaire.

Par contre, pour le sodium extra-cellulaire, nous voyons combien son taux sérique est susceptible de varier (de 2,20 à 4,60 g/l dans nos mesures), du double pratiquement. De ce fait, et comme il s'agissait d'animaux apparemment sains, on peut conclure qu'il s'agit là de variations physiologiques.

d) **Précisions et causes d'erreurs :** La précision de la méthode est surtout guidée par celle des mesures volumétriques ainsi que par celle des relevés établis sur la courbe d'étalonnage. Les causes d'erreurs qu'il faut faire intervenir sont :

— Les caractéristiques physiques de la flamme qui doit être toujours stable et uniforme.

— La fidélité du système instrumental conditionnée par les soins appliqués à son entretien.

— Les conditions de travail qui doivent être, dans la mesure du possible, identiques.

— La pression et le débit des gaz qui influent sur la flamme et sa température.

— La contamination des échantillons par le phénomène des ions de verrerie.

— L'élimination complète, difficilement applicable, de toutes les interférences.

— Les erreurs de lecture enfin.

— **Valeurs de la méthode :** La méthode par spectrophotométrie de flamme est une méthode simple, rapide et assez précise. De ce fait, elle présente une valeur certaine en biologie et en pathologie notamment dans le dépistage du déséquilibre hydro-minéral, si fréquent dans les diarrhées des jeunes. Pour le praticien vétérinaire rural, isolé, si elle ne peut apporter de soutien immédiat pour un cas précis, elle pourra, pour les mêmes problèmes qui se reposeront inévitablement dans le temps, donner une vue plus complète des phénomènes biologiques intimes.

III - RESISTIVITE :

— **Définition :** Si dans une solution d'électrolytes on introduit deux électrodes entre lesquelles existent une différence de potentiel, on constate qu'il apparait entre elles un champ électrique dû aux mouvements des ions présents dans la solution. On peut, dès lors, appliquer à ce courant, la relation suivante :

$$R = \rho \frac{l}{s}$$

Dans cette formule, R représente la résistance qu'oppose au passage du courant électrique la colonne de liquide. Elle s'exprime en ohm (Ω). ρ est la résistance spécifique ou résistivité de l'électrolyte en ohm par centimètre (Ω — cm). l est la longueur de la colonne de liquide en centimètres (cm) et s enfin est la section des électrodes en centimètres-carrés (cm^2). On déduit que la résistivité s'exprime par la formule en ohm par centimètre.

$$\rho = R \frac{s}{l}$$

— **Principe :** Le plasma sanguin peut être considéré comme une solution aqueuse de cristalloïdes. Les sels minéraux qui y sont contenus (chlosures, sulfates, phosphates de sodium, de potassium, de calcium, de magnésium, bicarbonates de sodium) se trouvent pour la plus grande partie à l'état ionisé et de ce fait, par leurs mouvements, vont créer un champ électrique. La mesure de la résistivité de cette solution d'électrolytes, pourvu qu'elle soit faite à une température constante et en tenant compte des caractéristiques géométriques de la cellule de mesure, permet de connaître la quantité d'électrolytes entrant dans la composition de cette solution. Cette résistivité sera alors d'autant plus faible que la concentration en électrolytes sera plus élevée parce qu'elle représente l'inverse de la conductibilité.

Toutefois, il faut remarquer que les électrolytes ne sont pas seuls à intervenir dans la détermination de la valeur de cette résistivité plasmatique. Les protéines, elles-mêmes, vont faire varier cette conductibilité et de ce fait, il est important d'en tenir compte. Aussi vont-elles entrer dans la formule de DAVYDOFF et SAUTIER qui donne le nombre de milliéquivalents totaux plasmatiques, en fonction de la résistivité et de la concentration des protéines en grammes par litre. De nombreuses constantes interviennent également et on aboutit à la relation :

$$mEq/l = \frac{1{,}8 \times 10^6}{\rho\ (100 - 0{,}25\ P)}$$

Dans cette formule, ρ est la résistivité en Ω cm, et P la concentration des protéines plasmatiques en g/l.

— **Technique :**

1) L'appareil :

Nous avons utilisé pour nos mesures de résistivité plasmatique un pont de mesures de conductibilité PHILIPS de type PR 9512/01 dont les cellules demandent une quantité minimum de liquide à mesurer égale à 2 millilitres. Cet appareil est basé sur le principe du pont de WHEATSTONE et fonctionne à l'aide d'une tension alternative de 50 périodes. L'organe essentiel est constitué par la cellule de mesure de conductibilité. Il s'agit d'une paire d'électrodes de platine qui, pour éviter toute polarisation, sont recouvertes de noir de platine en couche très mince. La surface de chacune des électrodes est de 1 cm^2, et elles sont séparées chacune de 1 cm. Ainsi, la colonne de plasma emprisonnée entre les 2 électrodes aura-t-elle un volume de 1 cm^3. Sur chaque cellule de mesure est indiquée une constante d'étalonnage par laquelle il faut multiplier la valeur de la résistance mesurée afin d'obtenir la résistance spécifique de la solution étudiée. Dans nos mesures, cette constante d'étalonnage était égale à1,35 et les lectures de la résistance se faisaient sur l'échelle I du cadran de l'appareil à l'aide d'un indicateur à faisceau électronique pour lequel nous recherchions la déviation minimale.

2) Les mesures :

a) Préparation des échantillons à analyser. Nos échantillons sont constitués par du sérum de bovins obtenu après centrifugation de sang total. Nous n'avons pris aucune précaution particulière avant de les utiliser, si ce n'est leur conversation à + 4° C.

b) Conduite d'une mesure : Il convient tout d'abord de réaliser une température constante de la solution d'électrolytes avant de procéder à une mesure quelconque. Pour cela, nous disposons d'un bain-marie fonctionnant avec un rhéostat qui nous a permis de choisir comme température optimale 37° C. La cellule de mesure, identique à un tube à essai renfermant 2 électrodes, est remplie avec environ 3 ml de sérum puis est introduite dans ce bain-marie. On agite la

solution sérique afin d'éliminer les bulles d'air qui peuvent éventuellement se former sur les électrodes par suite de la légère augmentation de température du sérum. Les électrodes plongent complètement dans la solution. Avant chaque mesure, il est nécessaire d'attendre un certain temps (environ une demi-heure dans nos expériences) afin que la température du bain-marie, répartie de façon homogène grâce à une petite hélice servant d'agitateur, soit communiquée à l'intérieur de la cellule de mesure. L'appareil de mesure proprement dit est alors mis en route et au bout de quelques minutes, on pratique une première lecture en faisant varier le faisceau électronique.

Une deuxième lecture a lieu quelques 10 minutes plus tard pour réduire les causes d'erreurs.

L'étude du premier échantillon terminée, il est alors très important de nettoyer soigneusement la cellule de mesure avant de l'utiliser à nouveau. Pour ce faire, le mieux est de la placer dans un bain d'eau distillée pendant 24 heures.

b) Résultats : Dès lors, pour chaque sérum, il est aisé de déduire de la lecture sur l'échelle I du cadran, la résistivité, conséquence de la quantité d'électrolytes et de protéines sériques. On emploie la formule suivante :

$$\rho = C \times R \times K$$

C'est ici la constante d'étalonnage, R, la résistance lue sur le cadran et K, un facteur de multiplication inhérent à l'appareil. Dans nos mesures, C, était égale à 1,35 et K à 10^2. Ainsi pour notre sérum n° 1, on a :

$$1{,}35 \times 0{,}505 \times 10^2 = 68{,}175\ \Omega\ \text{cm}$$

Comme nous le verrons dans le dosage des protéides sériques, la concentration en protéides de ce sérum étant de 71 g/l, l'application de la formule de DAVYDOFF et SAUTIER nous donne le nombre de milliéquivalents correspondants à ces données :

$$\text{mEq/l} = \frac{1{,}8 \times 10^6}{68{,}175\ [100 - (0{,}25 \times 71)]} = 321\ \text{mEq/l}$$

Récapitulons tous ces résultats sous forme d'un tableau :

N° d'ordre	ρ	P	mEq/l	N° d'ordre	ρ	P	mEq/l
1	68,175	71	321	22	64,800	64	329
2	66,825	64	320	23	72,900	74	305
3	68,175	70,5	320	24	72,900	67	299
4	66,150	67,5	327	26	72,225	72	306
5	67,5	70,5	323	27	71,010	70,5	309
6	68,175	69,5	320	28	70,875	72	311
7	67	66,5	322	29	66,555	65	323
8	68,850	69,5	317	30	69,930	67,5	310
9	69,525	71	315	31	72,765	68	305
10	64,800	62	328	32	72,225	66	301
11	70,875	69,5	309	33	71,550	64,5	302
12	68,850	63	311	34	71,010	68	307
13	72,225	66	301	35	69,930	70	313
14	68,850	67	314	36	66,825	66	322
15	71,010	71,5	310	37	68,175	66	316
16	71,550	69,5	306	100	72,765	66	299
17	68,175	69	319	101	70,875	69,5	309
18	70,200	72,5	314	102	72,765	67	300
19	71,550	70,5	307	103	69,930	64,5	308
20	72,900	71,5	303	104	71,550	66,5	304
21	67,500	66,5	320				

L'ensemble des résultats ainsi obtenus montre que la résistivité plasmatique des bovins est voisine de 70 Ω cm, qu'elle est donc très proche des valeurs trouvées chez l'être humain. Le nombre de milliéquivalents totalisant la part de tous les ions et dans une certaine mesure celle des protéines, apparait lui voisin de 310 c'est-à-dire très proche des valeurs avancées jusque-là. On peut donc en conclure que la méthode employée présente un intérêt certain par sa fidélité, sa précision mais également sa rapidité.

d) Précision et causes d'erreurs : Si la méthode de mesure de la résistivité plasmatique par l'emploi des cellules de mesure et du pont de WHEATSTONE nous apparait pleine d'intérêts, il ne faut pas croire qu'elle soit exempte de causes d'erreurs. Il peut exister en effet, une erreur relative due à la lecture sur l'échelle, erreur que nous avons facilement estimée à 2 % dans la zone de nos mesures. A cela, il faut ajouter les modifications apportées par la présence des bulles sur les électrodes, difficiles à oter en totalité quand on arrive à de très petites tailles. Toutefois, pour limiter cet inconvénient, il convient d'agiter avec soin les électrodes

dans le sérum. Une autre cause d'erreur pourrait intervenir de la présence de champs perturbateurs qui vont géner le bon fonctionnement de l'appareil. Enfin, en dernier lieu, le mauvais rinçage de la cellule entre deux mesures, qui ne doit laisser présager que des résultats peu sûrs.

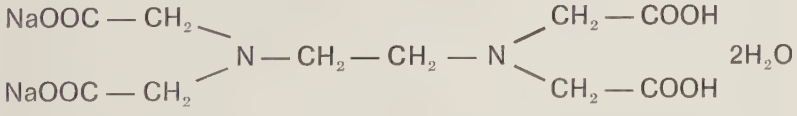
Ajoutons que pour la détermination en milliéquivalents, il faut tenir compte des erreurs apportées par le chiffre de la concentration en protéines.

— **Valeur de la méthode :** L'expérience nous montre qu'il s'agit d'une méthode infiniment précieuse quant à sa rapidité, sa simplicité et sa précision. Son emploi doit être élargi au maximum pour la détermination de l'équilibre ionique plasmatique global.

IV - COMPLEXOMETRIE :

Nous avons appliqué cette méthode qui porte aussi les noms de méthode au complexon, méthode de GAUTHIER et GRIGNAR, au dosage du calcium sérique.

— **Principes et réactions chimiques :** La méthode au complexon représente, dans son ensemble, une méthode simple de titrage précis d'ions métalliques. Elle est caractérisée, dans son principe, par la formation de complexes organo-métalliques ou chélates. La formation de tels complexes demande l'intervention de systèmes chélateurs dont trois sont essentiels et sont appelés complexons I, II et III. Les complexons I et II sont très peu solubles dans l'eau, aussi, pour nos mesures, avons-nous utilisé le complexon III qui chimiquement est le dihydrate du sel disodique de l'acide éthylène diamine tétraacétique (EDTA). On peut représenter sa formule comme suit :



Mais, pour plus de commodités de langage et plus de compréhension, nous lui préférons la formule suivante :

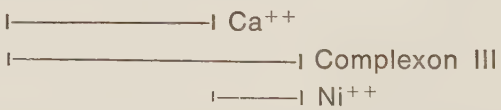
$$YH_2Na_2,\ 2H_2O$$

Ce complexon III possède la propriété caractéristique, en présence de cations bivalents et donc avec l'ion calcium (Ca^{++}) qui nous intéresse ici, de donner des complexes de la forme suivante :

$$YH_2Na_2,\ 2H_2O\ +\ Ca^{++} \longrightarrow YNa_2\,Ca,\ 2H_2O\ +\ 2H^+$$

Il est nécessaire alors, lorsque la réaction est consommée, de réaliser un dosage de l'ion qui nous intéresse. Différentes possibilités se présentent à nous. Comme on le voit, on pourrait utiliser un indicateur d'acidi-alcalimétrie puisque des ions hydrogène (H^+) sont libérés. On pourrait également utiliser un réactif caractéristique du cation dosé puisque, par définition même, lorsqu'un élément entre dans un complexe il perd ses réactions caractéristiques.

On peut enfin, et c'est ce que nous avons suivi dans nos mesures, faire réagir les ions calcium avec un excès connu de complexon III. Il suffit alors de doser l'excès de complexon III qui n'a pu entrer dans la réaction en utilisant un réactif approprié de ce sel. Pour cela, nous avons fait appel aux ions nickel (Ni^{++}). Ainsi, la première goutte d'ions Ni^{++} en excès va-t-elle donner une réaction colorée caractéristique. Ceci peut très bien se résumer par un schéma représentant la part des ions calcium, celle du complexon et celle enfin des ions Ni^{++} qui va servir à doser l'excès du complexon.



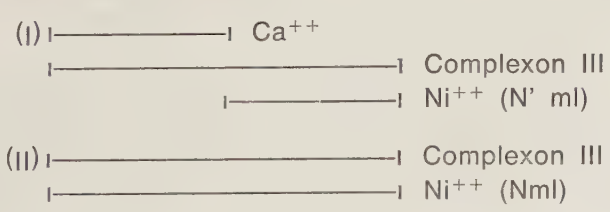
— **Technique de la réalisation :** Il convient, dans un premier temps, de disposer dans un tube à centrifuger conique 2 ml de sérum additionnés de 1 ml d'acide acétique à 1 %. Le mélange est convenablement agité puis laissé au repos pendant environ 5 minutes. Au bout de ce laps de temps, on ajoute 0,5 ml d'oxalate d'ammonium à 2 % que l'on mélange tout aussi intimement et on laisse reposer quelques instants avant d'introduire cette fois 0,5 ml d'ammoniaque à 2 % et d'agiter de nouveau. On laisse le mélange pendant une heure puis on le soumet à la centrifugation de 4000 tours par minute pendant une dizaine de minutes. L'oxalate de calcium a précipité et grâce à la force centrifuge va se retrouver plaqué aux parois inférieures du tube à centrifuger.

— A l'issue de ces 10 minutes, le tube est retourné sur plusieurs épaisseurs de papier filtre afin de réaliser un égouttage efficace qui ne laissera subsister que le précipité d'oxalate de calcium fortement appliqué aux parois inférieures du tube à centrifuger. Lorsque l'égouttage est suffisant, il convient de remettre ce précipité en solution à l'aide de quelques ml d'acide chlorhydrique Normale qui auront plus d'efficacité si on place le tube au bain-marie à ébullition pendant 5 minutes. Il faut ensuite laisser refroidir et ajouter 2 ml de complexon III ce qui correspond à $\frac{4}{1000^e}$ de mole, et 2 ml d'ammoniaque pure. On agite l'ensemble et on attend deux minutes environ. Enfin, on additionne le murexide qui est un sel d'ammonium de l'acide purpurique ayant la propriété, en milieu ammoniacal c'est-à-dire lorsque le pH est supérieur à 11, de se colorer en gris bleuté. Ce sel se trouve sous forme cristallisée et sa solution aqueuse se prépare extemporanément en raison de son extrême difficulté de conservation.

Il convient alors de doser à la microburette à l'aide d'une solution de nickel ($NiSO_4$) titrant $\frac{2}{1000^e}$ de mole, standardisée par rapport au complexon III dans un tube à centrifuger. Cette standardisation est faite en prenant quelques ml d'acide chlorhydrique, 2 ml de complexon III titrant $\frac{4}{1000^e}$ de mole, 1 ml d'ammoniaque pure et quelques cristaux de murexide. On verse alors la solution de sulfate de nickel jusqu'au virage qui se produit après l'addition d'un volume égal à 4 ml environ. La teinte du virage est jaune champagne et il est d'ailleurs intéressant de garder un témoin de coloration.

1) Calculs :

Il est utile, pour clarifier les calculs, de bien représenter de façon schématique, les réactions qui entrent en jeu. Le schéma I est celui de la réaction, le II celui du témoin :



N'ml est le nombre de ml de sulfate de nickel nécessaires pour doser l'excès de complexon dont une partie est fixée par le calcium. Nml est le nombre de ml qui a été utilisé lors de la standardisation de la solution de sulfate de nickel. On voit donc que le volume de nickel correspondant au calcium de la réaction est (N-N') ml. La standardisation montre que Nml d'ions nickel sont complexés par 2ml de complexon III d'où il découle que 1 ml de la solution d'ions nickel est complexé par $\frac{2}{N}$ ml de complexon III. Ainsi :

(N-N') ml de la solution d'ions nickel sont complexés par $\frac{2\ (N-N')}{N}$ ml de complexon III.

D'autre part, l'équation montre qu'une molécule de complexon III complexe 1 atome-gramme de calcium. Aussi peut-on écrire successivement :

— 1 litre de solution molaire de complexon III complexe 40 g de calcium.

— 1 ml de cette même solution complexe 40 mg de calcium.

— $\frac{2\ (N-N')}{N}$ ml complexent $\frac{2 \times 40\ (N-N')}{N}$ mg de calcium.

Comme la solution est de titre moléculaire $T = \frac{4}{1000^e}$ de mole, on a : $\frac{2\ (N-N')}{N}$ ml d'une solution de complexon III de titre T complexe $\frac{2 \times 40\ (N-N')}{1000\ N}$ 4 mg de calcium qui sont contenus dans 2 ml de sérum.

Pour 1 litre de sérum, l'équation devient :

$\frac{2 \times 40\ (N-N')\ 4 \times 500}{1000\ N}$ soit en définitive : $\frac{160\ (N-N')}{N}$ mg de calcium/l.

Remarques : Les solutions de complexon III et de sulfate de nickel sont préparées directement par pesée. Il faut souligner également que ce dernier sel cristallise avec 7 molécules d'eau. Enfin, dans la technique, il convient d'utiliser une eau distillée rigoureusement exempte de calcium.

Cette méthode fait donc intervenir de nombreuses mesures volumétriques et également quelques mesures par pesées. Il faut donc souligner par là qu'elle nécessite une grande dextérité dans les manipulations en même temps que beaucoup de justesse.

— **Résultats et interprétations :** Le tableau qui suit nous montre bien que chez les bovins, la calcémie subit des variations importantes d'un sujet à l'autre et qui n'apparaissent pas comme négligeables. Toutefois, les répercussions physiologiques de ces variations semblent peu, voire pas du tout importantes sur les habitus des animaux soumis à nos prélèvements puisqu'aucun ne présentait de signes quelconques de tétanie ou de parésie. Toutefois, chez les bovins intoxiqués par les pommes, l'hypocalcémie est manifeste mais nous ne pouvons y associer de symptômes précis, les prélèvements reçus ne portant pas d'indication à ce sujet.

N° d'ordre	N'	N-N'	Ca mg/l	Ca mEq/l	N° d'ordre	N'	N-N'	Ca mg/l	Ca mEq/l
1	1,5	2,5	100	5	22	1,75	2,25	90	4,5
2	1,55	2,45	98	4,9	23	1,35	2,65	106	5,3
3	1,5	2,5	100	5	24	1,36	2,64	105	5,2
4	1,62	2,38	95	4,7	26	1,25	2,75	110	5,5
5	1	3	120	6	27	1,25	2,75	110	5,5
6	1,55	2,45	98	4,9	28	1	3	120	6
7	1,45	2,55	102	5,1	29	1,45	2,55	102	5,1
8	1,36	2,64	105	5,2	30	1,18	2,82	113	5,6
9	1,5	2,5	100	5	31	1,45	2,55	102	5,1
10	1,8	2,2	88	4,4	32	1,8	2,2	88	4,4
11	0,7	3,3	132	6,6	33	1,36	2,64	105	5,2
12	2,3	1,7	68	3,4	34	1,55	2,45	98	4,9
13	1,93	2,07	83	4,1	35	1,68	2,32	93	4,6
14	2,43	1,57	63	3,1	36	1,62	2,38	95	4,7
15	1,5	2,5	100	5	37	1	3	120	6
16	1,6	2,4	96	4,8	100	1,8	2,2	88	4,4
17	1,73	2,27	91	4,5	101	1,83	2,17	87	4,3
18	1,73	2,27	91	4,5	102	2,03	1,97	79	3,9
19	1,9	2,1	84	4,2	103	2,65	1,35	54	2,7
20	1,98	2,02	81	4,0	104	1,62	2,38	94	4,7
21	1,13	2,87	115	5,7					

— **Valeur de la méthode :**

La méthode par complexométrie nous apparait comme particulièrement élégante dans le dosage du calcium sérique mais également d'autres ions susceptibles d'être complexés comme le cobalt et le cuivre par exemple. Mais, si elle est une méthode précise, elle n'en reste pas moins une méthode délicate nécessitant une grande habitude des manipulations de laboratoire sans laquelle, outre l'accumulation d'erreurs volumétriques, s'ajouterait une perte de temps importante.

V - DOSAGE DU PHOSPHORE MINERAL PAR COLOMETRIE :

Comme nous l'avons montré dans le rappel physiologique des ions faisant l'objet des dosages, le phosphore sérique existe à la fois sous forme minérale et sous forme organique. Dans notre expérience, nous n'avons mesuré que le taux de phosphore minéral et ainsi donc, notre premier souci a été de séparer ces 2 fractions. Pour ce faire, il est très simple d'utiliser l'acide trichloracétique (ATCA) qui a pour propriété de précipiter les matières organiques auxquelles le phosphore organique appartient et par la suite d'utiliser pour nos dosages, le surnageant.

— **Principe :** La théorie de la colorimétrie et l'appareillage utilisé seront exposés dans le chapitre consacré au dosage des protéides sériques par cette même méthode. Seules seront décrites ici les réactions qui entrent en jeu.

— **Technique :** Il est important de souligner que toutes ces mesures concernant le phosphore sérique doivent s'opérer sur le sérum frais. On entend par là du sérum prélevé depuis moins de 2 heures.

Nous avons employé la technique de BRIGGS.

Dans un premier temps, il faut donc procéder à la séparation de la fraction minérale du phosphore sérique, de sa fraction organique afin de ne conserver que la première. Pour cela, on introduit dans un bécher 2 ml de sérum frais, 6 ml d'eau distillée parfaitement exempte de phosphore et 2 ml d'acide trichloracétique à 20 %. On bouche le mélange que l'on agite alors avant d'en assurer la filtration sous cen-

dre plissée. Au sujet de cette filtration, une importante remarque s'impose. En effet, cette filtration doit s'opérer dans un temps relativement court, sans dépasser la minute car, à ce moment-là, il y a de très grands risques pour que se produise une décomposition en milieu acide des dérivés phosphorés organiques, ce qui aura pour conséquence une libération de phosphore sous forme minérale qui interviendrait alors dans le dosage ultérieur.

Dès lors, il est nécessaire pour continuer le dosage de préparer les solutions témoins connues qui vont permettre d'établir la courbe d'étalonnage. Celle-ci, de type semi-logarithmique, portera en abcisses les concentrations connues du phosphore et en ordonnées les pourcentages de transmission. Celle-ci est une droite passant par l'origine et il suffira, pour les sérums à mesurer, de reporter le pourcentage de transmission afin d'en déduire la concentration en phosphore correspondante. On débutera par une solution contenant $\frac{1}{100^{e}}$ mg de phosphore par ml et dont ont introduit 3 ml dans un tube à essai.

On ajoute ensuite 1 ml de réactif molybdique, 1 ml de solution d'hydroquinone, 1 ml de solution de sulfite de sodium et en dernier lieu 4 ml d'eau distillée exempte de phosphore. On mélange par retournement et on obtient ainsi une coloration bleue car en présence de réducteur, le phosphore minéral donne avec le réactif molybique, cette coloration.

On prépare ainsi des solutions de titre croissant et on note à chaque fois leur pourcentage de transmission au colorimètre.

Dans un deuxième tube à essai, on effectue le dosage du phosphore minéral sérique d'un échantillon. On introduit 5 ml de filtrat, ce qui correspond à 1 ml de sérum et on ajoute 1 ml de réactif molybdique, 1 ml de solution d'hydroquinone, 1 ml de solution de sulfite de sodium et 2 ml d'eau distillée pure. On mélange là encore par retournement et on laisse reposer 20 minutes avant de passer à l'emploi du colorimètre sur lequel va se faire la lecture.

Remarque : Les solutions étalons de phosphore sont généralement préparées par pesée d'un phosphate monopotassique.

— **Résultats et interprétation :**

Le tableau suivant nous les résume :

Résultats et interprétation :

N° d'ordre	P mg/l	N° d'ordre	P mg/l	N° d'ordre	P mg/l
1	67	15	58	30	53
2	59	16	37	31	77
3	58	17	46	32	47
4	95	18	64	33	44
5	63	19	54	34	50
6	48	20	44	35	58
7	72	21	59	36	52
8	54	22	42	37	55
9	70	23	61	100	65
10	36	24	73	101	62
11	115	26	57	102	43
12	75	27	50	103	78
13	45	28	66	104	75
14	73	29	92		

Toutes ces valeurs nous montrent combien il existe d'importantes différences individuelles chez les bovins quand on considère le taux du phosphore minéral sérique. La marge est ici de 36 mg/l pour le taux le plus faible à 115 mg/l pour le taux le plus élevé, ce qui donne une variation du simple au triple pratiquement, la différence séparant les individus 10 et 11 étant de 79. Cela permet de se demander quelle est l'importance réelle de cette fraction phosphorée du sang des bovins dans leur physiologie bien que nous sachions quels sont les facteurs qui sont susceptibles de la bouleverser. En conclusion, il faut donc bien se souvenir de la plasticité de la phosphatémie minérale des bovins.

— **Précision et causes d'erreurs :** La méthode employée apparait bonne, il existe des erreurs possibles avec l'emploi du colorimètre. Toutefois, c'est un procédé rapide, capable de donner vivement un bilan métabolique phosphoré.

Nous n'avons pas retenu ces résultats dans notre interprétation statistique en raison de leur grande disparité et de nombreux facteurs susceptibles de les faire varier.

VI - DOSAGE DES PROTEIDES PAR COLORIMETRIE :

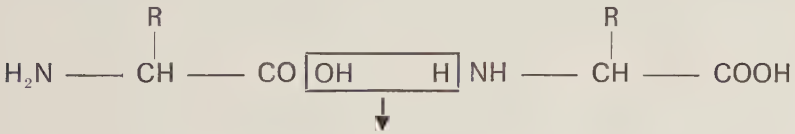
Le dosage des protéides sériques par colorimétrie se fait en 2 étapes :

Une première essentiellement chimique, destinée à fournir un composé coloré, dont la coloration est proportionnelle à la quantité de protéides qu'il contient et une deuxième, physique cette fois, destinée à apprécier l'intensité de cette coloration. La première étape est essentiellement représentée par la réaction du Biuret. La deuxième fait partie de l'analyse colorimétrique.

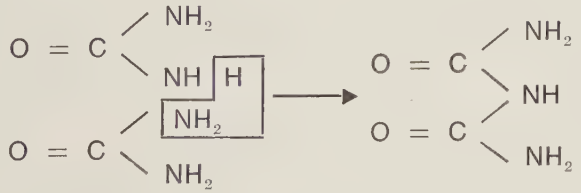
— La Réaction du Biuret :

1) Principe .

Les protéides sont constituées par la condensation d'acides aminés qui se réunissent grâce à une liaison spéciale : la liaison peptidique. Celle-ci apparait plus concrètement dans la formule suivante, après élimination d'une molécule d'eau entre 2 acides aminés.



Cette liaison peptidique possède une propriété remarquable celle de voir son hydrogène actif (H) susceptible d'être remplacé par un métal (Ag, Na...). Le plus connu de ces dérivés est celui qui se forme avec le cuivre en milieu alcalin et cette réaction porte le nom de réaction du Biuret car on peut l'obtenir en associant 2 urée :



Ce dérivé se colore en violet grâce à cette liaison peptidique dont le groupement de base est $O = \overset{|}{C} - NH$.

Cette réaction du Biuret est spécifique des protéines et on peut la résumer ainsi :

$$\text{solution de protéines} + CuSO_4 \xrightarrow{OH^-} \text{violet}$$

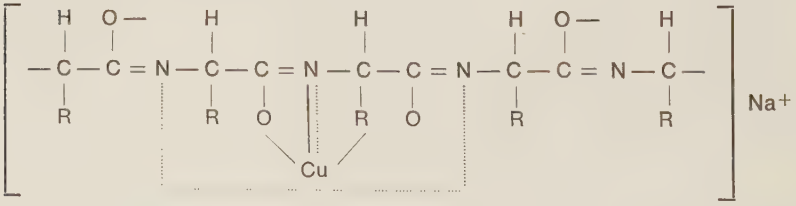
Remarque : Selon la règle de SCHIFF, cette réaction n'est pas absolument spécifique de la liaison peptidique car toutes les substances qui contiennent au moins ces liaisons suivantes : 2 CO — NH_2 ou CS — NH_2 ou encore :

$$C \begin{matrix} = NH \\ - NH_2 \end{matrix}$$

en situation voisine donnent la réaction.

Le deuxième fait remarquable de cette coloration violette est qu'elle est proportionnelle à la concentration en protéides de la solution. Toutefois, la coloration de base varie avec les constituants protidiques. Ainsi les dipeptides en solution alcaline donnent avec un sel de cuivre, une couleur bleu intense dont le maximum d'absorption se situe vers 630 à 650 mμ. Les tripeptides donnent une coloration bleu-violet ou violet-bleu avec un maximum d'absorption situé vers 580 mμ. Enfin, les tétrapeptides et les peptides supérieurs donnent une coloration violette dont le maximum d'absorption est à 530, 540 mμ.

Pour terminer, disons que la formation du complexe ions Cu — peptides peut-être schématiquement représentée de la façon suivante :



2) Réactifs :

Il faut tout d'abord préparer la soude décarbonatée qui va entrer dans la composition du réactif de GORNALL. Pour ce faire, on utilise 200 g de pastilles de soude pure que l'on dissoud dans 200 ml d'eau distillée.

Il convient de préparer le réactif de GORNALL qui répond à la formule suivante : 1,5 g de sulfate de cuivre hydraté ($CuSO_4$, $5H_2O$), 6 g de tartrate double de sodium et de potassium, 30 g de soude bicarbonatée, 1 g d'iodure de potassium et enfin de l'eau distillée en quantité suffisante pour 1000/ml.

Il faut disposer ensuite d'eau physiologique tirant 9 $^0/_{00}$ de chlorure de sodium, d'acide acétique à 1 $^0/_{00}$ et enfin d'une solution de chlorure de sodium saturée préparée en faisant dissoudre 363 g de chlorure de sodium dans 1000 ml d'eau destillée.

3) Technique :

2 techniques peuvent être appliquées, l'une rapide mais beaucoup moins précise, l'autre dite rigoureuse et c'est celle que nous avons utilisée.

a) Technique rapide : Elle ne fait pas intervenir la précipitation des protéides sériques si bien que les constituants comme l'azote résiduel vont entrer dans la réaction. Pour la réaliser, on met en présence 0,10 ml de sérum à analyser avec 1,9 ml d'eau physiologique et 8 ml de réactif de GORNALL. On laisse la coloration apparaître en plaçant le tube à essai contenant ce mélange pendant 30 mm à 20 ou 25° C. On utilise ensuite le photomètre.

b) Technique rigoureuse : Cette fois on va réaliser la précipitation des protéides sériques. A 0,1 ml de sérum, on ajoute 1 ml d'eau distillée, 0,1 ml d'acide acétique à 1 $^0/_{00}$ et 0,2 ml de la solution de chlorure de sodium saturée. On place ensuite le mélange au bain marie-bouillant pendant 15 mn puis on centrifuge à 5000 tours/mn pendant 5 mn.

On renverse alors le tube sur du papier filtre après avoir laissé décanter quelques instants le mélange. On additionne alors 2 ml d'eau physiologique et 8 ml de réactif de GORNALL. Le précipité se dissoud et on place le tube pendant 30 mn à 20-25° C en attendant la lecture au photomètre.

Enfin, il faut encore réaliser le « blanc » c'est-à-dire la solution qui va servir à préciser le zéro de l'appareil. On utilise pour cela 2 ml d'eau physiologique et 8 ml de réactif de GORNALL.

Il reste maintenant à envisager l'utilisation du photomètre photoélectrique.

— L'analyse colorimétrique :

1) Principe :

La variation de couleur d'un système dépend de la concentration de ses composants. Cette couleur est due à la formation d'un composé coloré grâce à l'addition d'un réactif approprié. L'intensité de cette coloration, enfin, peut être comparée avec ce qui serait obtenu en traitant de la même façon une concentration connue de la substance.

L'analyse colorimétrique est donc la détermination de la concentration d'une substance par la mesure de l'absorption relative de la couleur et en comparant avec une concentration connue de la substance. Dans nos expériences, l'œil a été remplacé par une cellule photoélectrique ce qui a permis d'éviter, dans une large mesure, les erreurs dues à l'expérimentateur. De plus, ces mesures ont été faites en lumière monochromatique. Ainsi, on arrive à la base de la théorie de la colorimétrie qui affirme que quand la lumière monochromatique tombe sur un milieu homogène, une partie de cette lumière incidente est réfléchie, une autre est absorbée par le milieu, le reste transmis. La lumière réfléchie est éliminée par l'appareil. Il persiste la relation $I_o = I_a + I_t$ ou I_o est la lumière incidente, I_a la lumière absorbée et I_t la la lumière transmise.

LAMBER a montré la relation entre I_o et I_t en l'exprimant dans une loi : $I_t = I_o e^{-kt}$ où k est le coefficient d'absorption pour la longueur d'onde et le milieu absorbant utilisés et t l'épaisseur du milieu.

BEER, lui, a montré qu'il existait une relation entre la transmission et la concentration des constituants colorés d'une solution : l'intensité d'un rayon de lumière monochromatique décroit de façon exponentielle tandis que la concentration de la substance absorbante croit de façon arithmétique ce qui peut s'exprimer de la manière suivante dans l'équation fondamentale de la colorimétrie ou loi de BEER-LAMBERT :

$$\log \frac{I_o}{I_t} = \varepsilon c t$$

La transmission T est le rapport entre l'intensité de la lumière transmise et l'intensité de la lumière incidente :

$$T = \frac{I_t}{I_o}$$

T est donc le rapport entre la transmission de la cellule contenant la solution colorée et celle d'une cellule identique contenant le solvant ou « Blanc ». I_o est donc ici l'intensité de la lumière transmise par le solvant pur ou l'intensité de la lumière arrivant sur la solution et I_t devient l'intensité de la lumière sortant de la solution ou transmise par la solution. La concentration d'une solution inconnue peut donc être calculée selon la formule :

$$Cx = \frac{\log I_o / I_t}{\varepsilon t} = A \log \frac{1}{T} = B \log T$$

En général, il vaut mieux travailler avec une lumière possédant une longueur d'onde voisine de celle pour laquelle la substance montre le maximum d'absorption sélective car, à ce moment-là, la sensibilité maximale est alors atteinte. Dans nos mesures, nous avons utilisé des filtres de lumière à 530 et 550 mμ. La concentration est alors proportionnelle au logarithme de sa transmission. Ainsi, en portant log T en ordonnées et la [c] en abcisses, on obtient une droite qui passe par l'origine (on utilise alors une échelle semi-logarithmique). Ainsi, pour une valeur de T, on a la valeur correspondante de c. Cette droite passant par l'origine indique la conformité de la loi.

2) Appareils :

Nous avons utilisé un colorimètre photoélectrique LUMETRON, modèle 401-T. Dans ce cas l'œil humain est remplacé par une cellule photoélectrique adaptée, employée pour permettre une lecture directe de l'intensité lumineuse et de là, de l'absorption. Ces instruments ne mesurent que l'absorption lumineuse, non la couleur des solutions, c'est pourquoi on doit leur préférer le terme de comparateurs photoélectriques, photomètres ou mieux encore, absorptiomètres à filtres. Ces parties essentielles sont une source de lumière, un filtre coloré pour isoler certaines zones du spectre (on a utilisé ici le spectre jaune-vert 530-550 mμ), un récipient pour la solution, une cellule photoélectrique d'arrêt pour recevoir la lumière transmise et un galvanomètre pour mesurer la réponse de cette cellule.

3) Les mesures :

Elles sont extrêmement simples à réaliser. En effet, après avoir réglé le zéro de l'appareil grâce au « Blanc », on passe la solution à tester immédiatement après et on relève la déviation correspondante du galvanomètre.

On fait ainsi une mesure avec un filtre coloré de 550 mμ et une deuxième mesure avec un filtre coloré de 530 mμ. En général, le résultat est identique quel que soit le filtre optique interposé. On reporte alors les valeurs trouvées pour chaque sérum sur une courbe d'étalonnage préalablement établie grâce à des solutions standards de sérums artificiels (Lab Trol) contenant 10, 30, 50, 70, 90 et 100 grammes de protéines par litre. On en déduit alors très facilement la concentration inconnue du sérum analysé.

Il est toutefois utile, pour avoir des mesures précises, de mettre en route l'appareil une demi-heure avant son utilisation.

4) Résultats et interprétations :

Les teneurs en protéides sériques chez les bovins varient de façon très sensible d'un individu à l'autre.

N° d'ordre	Protéides (g/l)	N° d'ordre	Protéides (g/l)
1	71	22	64
2	64	23	74
3	70,5	24	67
4	67,5	26	72
5	70,5	27	70,5
6	69,5	28	72
7	66,5	29	65
8	69,5	30	67,5
9	71	31	68
10	62	32	66
11	69,5	33	64,5
12	63	34	68
13	66	35	70
14	67	36	66
15	71,5	37	66
16	69,5	100	66
17	69	101	69,5
18	74,5	102	67
19	70,5	103	64,5
20	71,5	104	66,5
21	66,5		

5) Critique de la méthode :

Le choix de la méthode colorimétrique, comme d'ailleurs de la méthode spectrophotométrique qui en est très voisine, dépend de certaines considérations. Cette méthode doit donner des résultats plus précis avec de faibles concentrations que les méthodes correspondantes de la volumétrie ou de la gravimétrie. Elle doit être également plus simple à mettre en œuvre.

Cette méthode doit s'appliquer souvent à des conditions pour lesquelles volumétrie et gravimétrie ne donnent pas satisfaction.

Cette méthode doit s'appliquer souvent à des conditions une détermination de routine très rapide. Mais pour cela, elle doit satisfaire à plusieurs impératifs. Ainsi, on doit toujours s'attacher à rechercher une réaction colorée étroitement spécifique, ce qui est difficile. On doit toujours vérifier que le système suit bien la loi de BEER, que la lumière produite soit stable. Les résultats doivent être reproductibles et enfin, il faut rechercher la plus grande sensibilité possible de cette réaction colorée.

Les erreurs sont dues le plus fréquemment à la présence dans la solution de substances interférentes qu'il faut s'efforcer de supprimer, à un mauvais ajustement du pH.

INTERPRETATION STATISTIQUE DES RESULTATS

L'interprétation statistique des résultats va nous permettre de répertorier toutes ces données afin d'en avoir une vue plus générale et de déterminer de façon plus précise les différentes marges de variations.

Ainsi par nos mesures, nous avons pu donner une moyenne pour chacun des constituants étudiés chez les bovins.

Pour le sodium, celle-ci est de 3,35 g/l, ce qui équivaut à 145,6 mEq/l. Pour cet élément, nous avons obtenu comme valeurs extrêmes 2,20 g/l et 4,60 g/l soit 95 et 200 mEq/l.

Pour le potassium, la moyenne trouvée est de 0,211 g/l soit 5,2 mEq/l avec des valeurs extrêmes de 0,157 g/l (3,8 mEq/l) et 0,29 g/l (7,2 mEq/l).

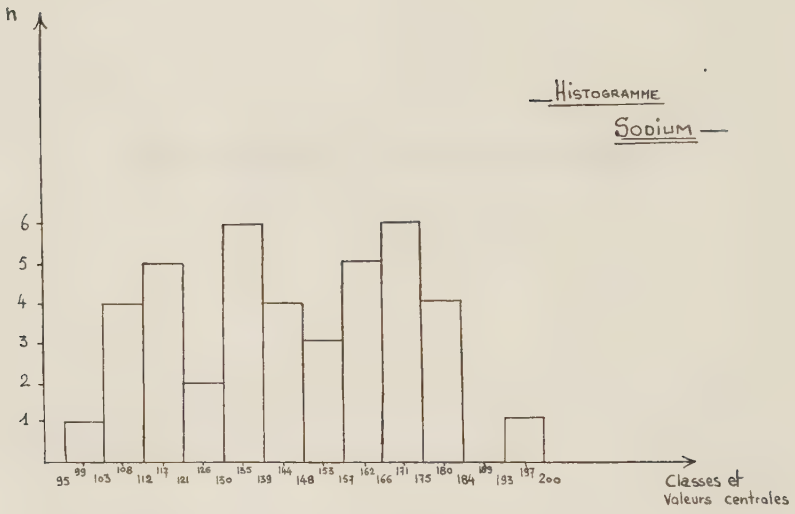
Le calcium de nos mesures donne une moyenne de 112 mg/l soit 5,6 mEq/l avec en extrêmes 63 mg/l (3,1 mEq/l) et 120 mg/l (6 mEq/l).

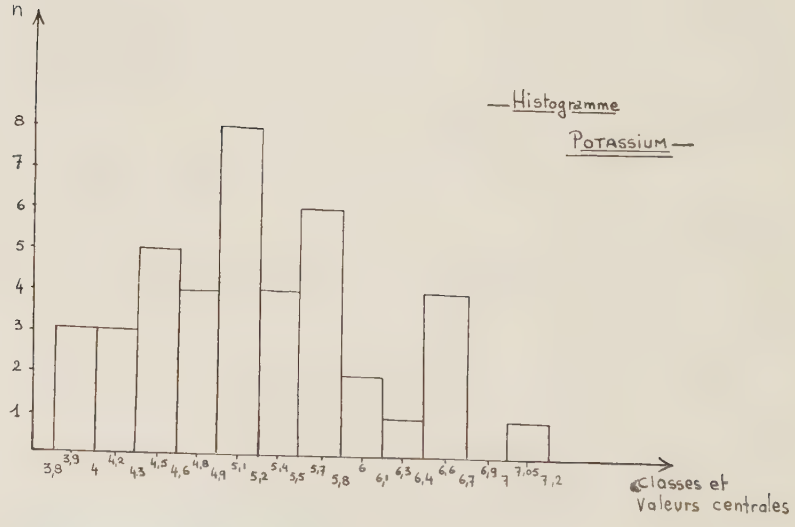
Le phosphore, malgré ses grandes variations, a pour la fraction minérale, une moyenne de 60,3 mg/l avec aux extrêmes 36 et 115 mg/l.

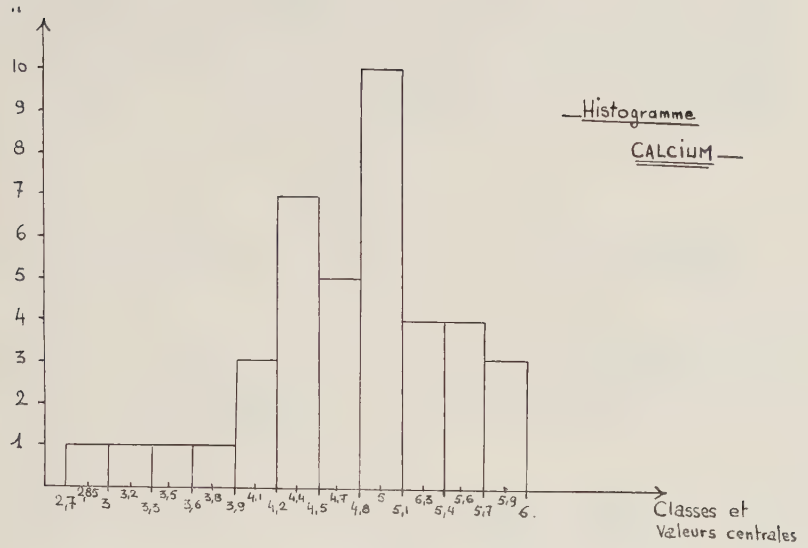
Pour les protéides sériques, la valeur moyenne est de de 68,19 g/l.

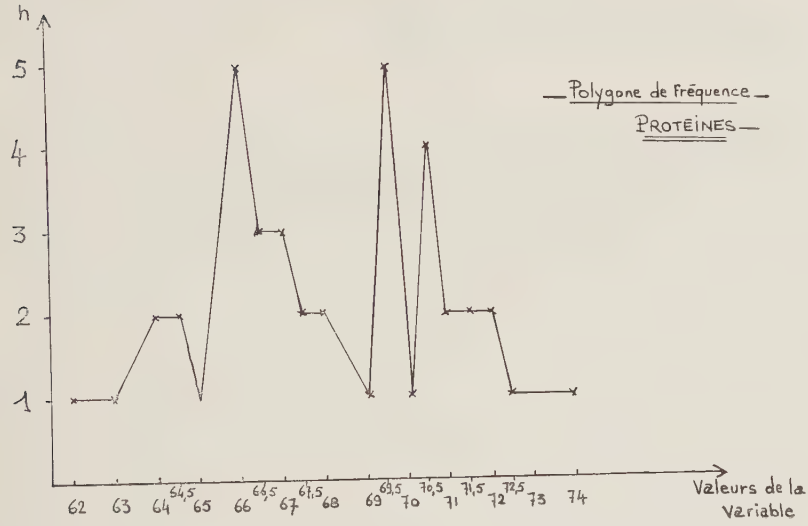
Quant à la résistivité, sa valeur moyenne atteint 69,713 Ω cm soit un nombre de milliéquivalents égal à 312 par litre.

Il est intéressant à ce niveau d'établir pour chaque groupe de résultats, un histogramme. Pour ce faire, nous avons envisagé des répartitions par classes différentes pour chaque groupe. On obtient alors les histogrammes suivants :


n
Histogramme
Sodium
6
5
4
3
2
1
95 99 103 108 112 117 121 126 130 135 139 144 148 153 157 162 166 171 175 180 184 189 193 197 200
Classes et
Valeurs centrales


n
Histogramme
Potassium
8
7
6
5
4
3
2
1
3,8 3,9 4 4,2 4,3 4,5 4,6 4,8 4,9 5,1 5,2 5,4 5,5 5,7 5,8 6 6,1 6,3 6,4 6,6 6,7 6,9 7 7,05 7,2
Classes et
Valeurs centrales


Histogramme
CALCIUM
Classes et
Valeurs centrales


Polygone de fréquence
PROTÉINES
Valeurs de la
Variable

De l'examen de ces histogrammes, on s'aperçoit que pour le sodium, le potassium, le calcium et la résistivité, on obtient une répartition homogène ayant l'allure d'une courbe de GAUSS. De là, il nous a été possible de déduire les déviations standards ou écarts types pour chacun de ces éléments. Ces écarts types sont donnés par la formule :

$$\sigma = \sqrt{\frac{\varepsilon e\ (X - \bar{X})^2}{N}}$$

où X est la valeur de la variable, $\bar{X}$ la moyenne et N le nombre de populations de mesures.

On a alors les résultats suivants :

σ Na = 25,24	σ Ca = 0,69
σ K = 0,81	σ P = 8,4

On peut ainsi, en connaissant ces écarts types définir l'étendue de ces courbes :

$$E = \bar{X} \pm 2\sigma$$

Dès lors, on peut faire des calculs de probalitiés de position de valeurs quelconques de X.

CONCLUSION

Nous allons rappeler brièvement les valeurs trouvées dans notre expérimentation en tenant compte des écarts-types pour les quatre d'entre-elles qui se répartissent de façon homogène.

[Na] = 145,6 mEq/l ± 50,5
[K] = 5,2 mEq/l ± 1,6
[Ca] = 4,8 mEq/l ± 1,4
[ρ] = 312 mEq/l ± 17
[Protéines] = 68,19 mEq/l ± 4,6

[Phosphore sérique minéral] = 60,3 mg/l (grandes variations)

De l'ensemble des méthodes que nous avons utilisées, il ressort que chacune d'entre-elles possède des avantages certains. Toutefois, les procédés colorimétriques et spectrophotométriques apparaissent précis, plus rapides et simples. Ils apparaissent comme la solution idéale directement applicable à la clinique.

VU : Le Professeur
de l'Ecole Vétérinaire, rapporteur :
A. RICO.

VU : Le Directeur
de l'Ecole Vétérinaire :
R. FLORIO.

VU : Le Président de la Thèse :
DOUSTE-BLAZY.

VU : Le Président de l'Université :
L. LARENG.

N° 392.
VU et PERMIS D'IMPRIMER,
Toulouse, le 2 octobre 1970.

Le Recteur,
Président du Conseil de l'Université :
C. CHALIN.

BIBLIOGRAPHIE

1. J. RULLIER et A. PARODI : **Laboratoire et diagnostic en médecine vétérinaire.** (Vigot Frères, éditeurs).

2. E. KOLB : **Physiologie des animaux domestiques.** (Vigot Frères, éditeurs).

3. TORAUDE : **Examens de laboratoire en pratique médicale courante.**

4. Pr. Y. RUCKEBUSCH : **Eléments pratiques de physiologie et pharmacodynamie.**

5. CORNELIUS KANEKO : **Clinical biochemistry of domestic animals.**

6. C. BENEZECH : **Physico-chimie biologique et médicale.** (Masson et C^{ie}).

7. M. LAMOTTE : **Initiation aux méthodes statistiques en biologie.** (Masson et C^{ie}).

8. G. CHARLOT : **Les méthodes de la chimie analytique : Analyse quantitative minérale** (Masson et C^{ie}).

9. J. LONGLEUR : **Techniques de laboratoire**. (Masson et C^{ie}).

10. FEDERATION OF AMERICAN SOCIETIES FOR EXPERIMENTAL BIOLOGY : **Blood and other body fluids.** (Biologycal handbooks).
Techniques de l'ingénieur - Mesure et analyse.

Imprimerie Saint-Joseph
36, rue Eugène-Ténot - Tarbes